

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1936-1937

N° 27

Recherches sur les Perchlorates

Propriétés Analytiques et Toxicologiques

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 28 Juin 1937

PAR

Jules DURAND

Pharmacien

JURY

MM. R. FABRE, *Président.*
M. PICON, *Agrégé.*
C. BEDEL, *Agrégé.*

PARIS

IMPRIMERIE CENTRALE

5, rue Erard

1937

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1936-1937

N° 27

Recherches sur les Perchlorates

Propriétés Analytiques et Toxicologiques

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 28 Juin 1937

PAR

Jules DURAND

Pharmacien

JURY	{	MM. R. FABRE, <i>Président.</i>
		M. PICON, <i>Agrégé.</i>
		C. BEDEL, <i>Agrégé.</i>

PARIS

IMPRIMERIE CENTRALE

5, rue Erard

1937

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. GUERIN, *Doyen*, O. *, ☼ I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. *, ☼ I.
P. DESPORT, *Secrétaire*, *, ☼ I.

PROFESSEURS

MM. GUERIN, O. *, ☼ I.	Botanique générale.
PERROT, C. *, ☼ I.	Hist. natur. des médicam.
COUTIERE, O. *, ☼ I.	Zoologie.
LEBEAU, O. *, ☼ I., m. de l'Inst.	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, O. *, ☼ I.	Chimie analytique.
GORIS, O. *, ☼ I.	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *, ☼ I.	Physique.
DAMIENS, *, ☼ I.	Chimie minérale.
HERISSEY, O. *, ☼ I.	Chimie biologique.
SOMMELET, *, ☼ I.	Chimie organique.
LUTZ, *, ☼ I.	Cryptogamie et Microbiologie
FABRE, *, ☼ I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, ☼ I.	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire: M. RADAIS, O. *, ☼ I.

Professeurs honoraires :

MM. BEHAL, G. O. *, ☼ I. et DELEPINE, O. *, ☼ I., membres de l'Institut
et GUERBERT, *, ☼ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *, ☼ I.	Législat. et Déontologie pharmaceut.
LAUNOY, O. *, ☼ I.	Pharmacodynamie.
DELABY, *, ☼ I.	Hydrologie et Hygiène.
PICON, ☼ I.	Minéralogie.
BACH, ☼ I.	Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, *, ☼ A.	MM. BACH, ☼ I.
PICON, ☼ I.	BEDEL, ☼ I.
MASCRE, ☼ I.	REGNIER, ☼ I.
FLEURY, ☼ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, ☼ I., *agrégé*, chargé des T.P. de 1^{re} année. Chimie génér.
FLEURY, ☼ I. et REGNIER, ☼ I. : *agrégés*,
chargés des travaux de Chimie analytique.

SOUEGES, ☼ I.	— Micrographie.
LEROUX, *, ☼ I.	Physique.
DEVAL, *, ☼ I.	Microbiologie.

DELABY, *, ☼ I., PICON, ☼ I. et MASCRE, ☼ I. :
agrégés, chargés des travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en Chef: M. GARNIER, ☼ A.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR RENÉ FABRE

*Professeur de Toxicologie
à la Faculté de Pharmacie de Paris
et à l'Institut d'Hygiène Industrielle
et de Médecine du Travail
de la Faculté de Médecine de Paris.*

*Pharmacien en Chef
du Groupe Hospitalier Necker-Enfants malades.
Chevalier de la Légion d'honneur.*

Faible témoignage de notre très vive reconnaissance et de notre respectueux attachement.

A MONSIEUR P. CHERAMY

*Assistant au laboratoire de toxicologie
de la Faculté de Pharmacie de Paris.*

Pharmacien des hôpitaux de Paris.

Témoignage de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR E. KAHANE

Docteur ès sciences

*Chef des travaux pratiques de toxicologie
de l'Institut d'Hygiène industrielle
et de Médecine du travail
de la Faculté de Médecine de Paris.*

Hommage de gratitude et de respectueux
dévouement.

A MONSIEUR M. PICON

*Professeur agrégé
à la Faculté de Pharmacie de Paris.
Pharmacien des Hôpitaux.*

Hommage respectueux.

A MONSIEUR C. BEDEL

*Professeur agrégé
à la Faculté de Pharmacie de Paris.*

Hommage respectueux.

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A MA FAMILLE

INTRODUCTION

Aucun perchlorate ne se trouve naturellement dans les substances biologiques, et la technique proposée aujourd'hui a été mise au point pour étudier leur répartition et leur concentration dans les différents organes d'un animal, après injection ou ingestion de perchlorate.

Ce problème présente un intérêt pratique en raison de la commodité de préparation et de purification des perchlorates de bases organiques dont l'emploi peut être envisagé en physiologie et en thérapeutique.

Ces perchlorates sont en effet des sels parfaitement définis, non hygroscopiques, bien cristallisés et généralement anhydres, susceptibles de purifications par recristallisations s'opérant dans de bonnes conditions.

On peut dès lors choisir pour l'expérimentation l'emploi de la base organique sous forme de perchlorate, sans craindre d'action propre de l'ion ClO_4^- [E. KAHANE (27)]. Il est vrai que cet ion possède une activité non négligeable, ainsi que l'ont signalé KERRY et ROST dès 1897 (30), activité se traduisant selon ces auteurs par une augmentation de l'excitabilité du système nerveux végétatif, et par des contractions cloniques du muscle strié. Mais, si nous remarquons que cette action ne s'observe qu'à des doses relativement élevées par rapport aux doses de bases organiques pouvant être utilisées, nous admettrons qu'aux doses mêmes où l'ion perchlorique, combiné aux bases, sera employé, son action propre sera négligeable.

Les recherches des différents auteurs et celles que nous avons entreprises, étudiées plus en détail au chapitre VII, mettent d'ailleurs en évidence le peu de toxicité attribuable à l'ion perchlorique.

*
* *

Le travail que nous présentons peut se diviser en sept parties.

Dans un premier chapitre, nous passons en revue très succinctement les principaux caractères et les propriétés des acides perchloriques, anhydre ou hydratés, et des perchlorates.

Le second chapitre est consacré aux travaux concernant les différentes méthodes actuelles de dosage de l'ion perchlorique, et présente deux techniques originales de dosage que nous avons mises au point, et dont l'une est directement applicable aux substances biologiques.

Les modalités en sont étudiées au chapitre III.

Nous poursuivons l'application de notre technique de dosage dans une étude sur l'élimination urinaire de l'ion perchlorique (chap. IV); dans des recherches sur sa répartition dans les différents organes, après absorption (chap. V) et dans la recherche de son sort au cours de la putréfaction (chap. VI).

Enfin le chapitre VII est consacré à des recherches générales sur la toxicité de l'ion perchlorique, à différents étages du monde vivant: animaux, plantes, champignons inférieurs et bactéries.

*
* *

Avant d'entreprendre l'exposé de notre travail, nous tenons à remercier Monsieur le Professeur FABRE du bienveillant accueil qu'il nous a offert dans son laboratoire de Toxicologie de la Faculté de Pharmacie de Paris et nous permettons d'assurer ce maître bienveillant de notre plus vive et de notre plus respectueuse reconnaissance.

Que Monsieur E. KAHANE, docteur ès sciences, trouve ici l'expression de nos vifs remerciements pour nous avoir journellement prodigué ses conseils éclairés au cours de ces recherches.

Nous adressons à Monsieur P. CHERAMY, pharmacien en chef des hôpitaux, tous nos remerciements pour les

indications précieuses qu'il nous a si obligeamment fournies.

La partie mycologique et bactériologique de notre travail a été exécutée au laboratoire de bactériologie des laboratoires BYLA, à Gentilly; nous remercions vivement notre camarade Michel COMAR, docteur en médecine, pharmacien, de sa bienveillante hospitalité, et notre camarade GAUDUCHON, pharmacien, ancien élève de l'institut Pasteur, de tous les conseils et de l'aide qu'il nous a apportés pour ces recherches.

Merci enfin à tous nos camarades d'avoir contribué à conserver au laboratoire de la Faculté une atmosphère toute de sympathie et de bonne humeur.

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR L'ACIDE PERCHLORIQUE

L'acide perchlorique, ClO^4H , a été préparé pour la première fois par STADION, en 1815 (61) puis par SÉRULLAS, en 1830 (52) qui le désignait sous le nom d'acide oxichlorique. Ces auteurs l'obtenaient par transformation de l'acide chlorique ou des chloratés à l'aide de l'acide sulfurique ou de la chaleur.

Par la suite, l'industrie fournissant les perchlorates par action de la chaleur ou par électrolyse des chlorates, l'acide perchlorique fut préparé soit par précipitation d'un perchlorate métallique par un acide convenable, soit par oxydation du perchlorate d'ammonium par l'eau régale.

Mais la préparation véritablement industrielle de l'acide perchlorique concentré a été indiquée en 1912 par H. H. WILLARD (70).

L'acide dilué, obtenu par action de l'eau régale sur le perchlorate d'ammonium, est concentré par distillation sous pression réduite. L'acide obtenu ne contient pas de produits chlorés grâce à la distillation sous pression réduite. Il titre environ 72 % en ClO^4H , et correspond à l'acide hydraté. C'est le point de départ de l'acide commercial à 66 %, de densité: 1,61, que l'on obtient par simple dilution du précédent.

Les impuretés que l'on y rencontre à l'état de traces seulement, sont constituées principalement par: Na, Ca, Fe, Cr, Mn et ne font en général aucun obstacle à son emploi. Si toutefois elles doivent être éliminées pour certaines recherches: recherches de toxicologie en particulier, il suffit d'opérer une simple redistillation sous pression réduite. Pour avoir une pureté absolue, on fera

cette dernière opération en présence d'acide sulfurique. Cette technique est utilisée au laboratoire de toxicologie de la Faculté de Pharmacie de Paris. Elle ne présente aucun danger si l'on prend soin d'éviter tout contact fortuit de l'acide perchlorique avec une substance organique. En particulier, on opère dans un appareil à distillation dont les différents éléments sont ajustés par rodage, et on prévoit l'absorption de l'acide par une substance inerte en cas de bris de l'appareil.

On tiendra compte du fait qu'au début de l'opération distille de l'acide dilué, puis le mélange azéotrope à 72 %.

Les acides très concentrés: monohydraté et anhydre, ne sont pas industriels et sont actuellement d'utilisation restreinte. On peut les obtenir par distillation sous pression réduite de l'acide commercial.

Propriétés physiques

L'ébullition d'acide perchlorique plus ou moins dilué, évolue vers la distillation d'un mélange azéotrope, renfermant 72 % de ClO_4H , et passant vers 203° à la pression ordinaire. Sa composition à cet état correspond à celle d'un dihydrate. L'acide perchlorique se trouve donc être relativement stable à la chaleur si on le compare aux acides azotique ou chlorhydrique, mais toutefois facilement éliminable par rapport aux acides sulfurique ou phosphorique. Chauffé à l'état concentré, il émet des vapeurs blanches abondantes, facilement repérables au cours d'une destruction organique par exemple.

L'étude cryoscopique de l'acide à diverses concentrations fournit des cristallisations avec une, deux, deux et demie, trois, trois et demie molécules d'eau, correspondant à autant d'hydrates.

Résumons ci-dessous quelques propriétés physiques:

ACIDE	TITRE	ASPECT	DENSITÉ	
pur	100	liquide mobile	1,764	bout à 39° sous 56 mm.
monohydraté .	84,8	cristallisé	1,810	fond vers 50° .
commercial ..	66	liquide visqueux	1,610	bout à 200° sous 760 mm.

Propriétés chimiques

De tous les composés oxygénés du chlore, l'acide perchlorique est le plus stable et à ce titre, c'est vers cet état que tendront à évoluer les autres au cours des réactions.

Il est beaucoup plus stable que l'acide chlorique, et si l'acide perchlorique pur présente encore des risques d'explosion spontanée, celles-ci ne sont plus à craindre avec une concentration inférieure à 72 %.

Il se comporte comme un monoacide fort, et donne des sels bien définis. Il déplace les acides forts volatils: acides chlorhydrique et nitrique, mais ne déplace pas l'acide sulfurique sauf si les perchlorates correspondants sont peu solubles, auquel cas ils précipitent quantitativement.

Ses propriétés oxydantes sont fonction de sa concentration et de la température:

Pur ou monohydraté, il attaque énergiquement toutes les substances organiques avec explosion.

A une dilution inférieure à 72 %, il n'agit qu'à température élevée comme oxydant des substances organiques ou de rares réducteurs minéraux; à la température d'ébullition de l'eau, seuls quelques rares produits chimiques peuvent le réduire: sels titaneux, hydroxyde ferreux; à froid enfin, il ne subit aucune réduction.

De nombreuses méthodes de dosage sont basées sur cette réduction, soit à température élevée, soit à l'ébullition; nous étudions plus spécialement au chapitre 2 celles qui ont été déjà proposées ainsi que deux méthodes originales, l'une à température élevée en présence d'acide sulfurique bouillant et de soufre, l'autre par ébullition d'une solution aqueuse en présence d'un sel de Molybdène.

Perchlorates

On prépare les perchlorates par saturation de l'acide perchlorique, ou par double décomposition.

Le produit industriel, point de départ, est le perchlo-

rate de sodium qui constitue un sous-produit dans la préparation électrolytique du chlorate.

Ce sont des sels bien définis, isomorphes des permanganates. Ils sont très solubles dans l'eau, sauf ceux de potassium, de coesium et de rubidium qui y sont insolubles, ce qui sert de point de départ pour les dosages de perchlorates par voie pondérale (cf. chap. 2: Dosages par précipitation). Le perchlorate d'ammonium, moins soluble, l'est encore à la dose de 220 gr. par litre.

Parallèlement, ils sont tous hygroscopiques, sauf les exceptions citées ci-dessus, auxquelles il convient d'ajouter les perchlorates de plomb et de mercure, et peuvent être utilisés comme desséchants.

Toujours avec les mêmes exceptions, ils sont très solubles dans de nombreux liquides organiques: alcool, acétone, etc.

La chaleur les décompose à partir de 400° en chlorures (cf. chap. 2 : Dosages par voie sèche).

Les perchlorates organiques sont bien cristallisés, généralement anhydres, non hygroscopiques et relativement stables à la chaleur; en particulier les perchlorates d'alcaloïdes sont tous stables jusqu'à 500°.

Les perchlorates d'amines ou d'alcaloïdes, tels ceux de strychnine, de brucine, de morphine, sont peu solubles (Denigès-12), et peuvent également être utilisés à des dosages par précipitation (cf. chap. 2).

CHAPITRE II

DOSAGE DE L'ION PERCHLORIQUE

L'ion perchlorique est un élément particulièrement stable, difficile à dissocier, ne présentant pas de réactions de précipitation ou de coloration caractéristiques, aussi son dosage a-t-il donné lieu à de nombreuses recherches et mises au point. Nous proposons de diviser les méthodes étudiées jusqu'ici en quatre groupes :

Premier groupe: méthodes par précipitation, soit sous forme de perchlorate de potassium, insoluble, soit sous forme de perchlorate d'amine ou d'alkaloïde, également insolubles.

Deuxième groupe comprenant les méthodes par voie sèche, et reposant sur la transformation des perchlorates en chlorures, à des températures assez élevées (400-500°), variables avec le perchlorate envisagé.

Troisième groupe renfermant les méthodes par ébullition au sein d'un liquide aqueux renfermant un réducteur convenablement choisi.

Quatrième groupe: méthodes de réduction au sein de l'acide sulfurique concentré et bouillant.

1. — Méthodes par précipitation

Comme nous l'avons vu en rappelant leurs propriétés, les perchlorates métalliques sont tous très solubles dans l'eau, à l'exception de ceux de la famille du potassium, dont l'insolubilité dans l'eau et dans les liquides organiques peut être mise à profit à des fins analytiques, soit pour doser l'élément métallique, soit pour doser l'ion perchlorique.

HISTORIQUE

Dès 1818, STADION (61) signale la faible solubilité du perchlorate de potassium. SÉRULLAS, en 1831 (51), étudiant les divers perchlorates, propose l'emploi de l'acide « oxichlorique » comme réactif propre à distinguer et à séparer la soude de la potasse libre, et combinée à d'autres acides. Puis SCHLOESING (49) indique une méthode de dosage du potassium par précipitation à l'état de perchlorate de potassium et lavages à l'alcool. Par la suite, de nombreux auteurs, HAMMEL (22), KREIDER (33), KREIDER et BRECK (34), SHIVER (54), etc. recommandent l'acide perchlorique pour la séparation du potassium et du sodium. DAVIS (11) estime même que cette méthode est supérieure à la méthode chloroplatinique. THIN et CUMMING (63) étudient les solubilités du perchlorate de potassium dans des liqueurs perchloriques de concentrations croissantes et donnent les meilleures conditions de la recherche, après une revue bibliographique et une mise au point des différentes techniques proposées depuis SÉRULLAS. SMITH et ROSS (57-58) étudient également la solubilité du perchlorate de potassium en présence des solvants organiques et donnent, ainsi que YOE (73) des précisions pour le dosage du potassium sous cette forme. Enfin KAHANE, en 1933 (25), conseille à nouveau l'emploi de l'acide perchlorique et donne la formule de composition d'un réactif pratique à l'usage des laboratoires.

Les perchlorates appartenant à la même famille que le potassium, c'est-à-dire perchlorates de rubidium et de coesium se comportent de la même façon et ont également fait l'objet d'études analogues, bien que moins nombreuses. Citons à ce sujet les recherches de VAN BREUKELEVEEN (66) et celles plus récentes de SMITH et ROSS (57).

D'autre part, l'acide perchlorique est susceptible de donner avec certaines bases alcalines ou certains alcaloïdes, des combinaisons cristallisées bien définies, d'aspect caractéristique, pouvant facilement être utilisées pour sa recherche microscopique: citons les microréactions proposées par DENIGÈS (9-10) avec le sulfate de

strychnine, l'acétate de brucine, le chlorhydrate de morphine. Citons encore la méthode colorimétrique de dosage de l'ion perchlorique dans les salpêtres du Chili, par combinaison avec le bleu de méthylène en solution, proposée par MOUNIER (43). Cette combinaison cristallisée est observable microscopiquement à des doses allant jusqu'à 0 mg. 003 ClO₄ (KRUGER et TSCHIRCH (35).

Reposant sur les mêmes principes de combinaison cristallisée insoluble est la technique de MARVEL et DU VIGNEAUD (41) employant le *nitron* (diphénylamino-dihydrotriazol), réactif donnant un précipité observable dans des solutions de nitrate à 0,005 N et de perchlorate à 0,0025 N, correspondant ainsi pour les perchlorates à une solution à 8,2 mg. pour 100 cm³. LOEBLICH (39) étudie également cette précipitation à l'état de perchlorate de nitron, qu'il indique de laver à l'eau glacée, puis de sécher à 110°.

ESSAIS PERSONNELS

Si les perchlorates de bases organiques ont été proposés pour la recherche ou pour le dosage de l'ion perchlorique, par contre, le perchlorate de potassium n'a été préconisé par les nombreux auteurs qui l'ont étudié que pour le dosage du potassium.

Nous avons voulu voir si dans certaines conditions, l'ion perchlorique pouvait être totalement précipité sous cette forme et dosé de cette manière.

Nous avons tout d'abord essayé de doser le potassium dans une solution de chlorure de potassium en le précipitant sous forme de perchlorate. Ce précipité est lavé à l'alcool à 97°, séché et pesé. Les résultats obtenus comportent une erreur d'environ 1 % par suite d'une légère solubilité du perchlorate de potassium dans l'alcool. Les dosages de potassium, effectués en présence de sodium, et nécessitant pour l'élimination totale du perchlorate de sodium une plus grande quantité d'alcool, donnent une erreur un peu supérieure, pour la même raison. Les lavages effectués à l'acétate d'éthyle donnent des résultats analogues. L'emploi de la centrifugation

au lieu du creuset de SCHOTT n'améliore pas les rendements.

La précipitation quantitative du perchlorate de potassium exigeant l'emploi d'alcool à 97° additionné d'acide perchlorique, nous concluons à l'impossibilité de titrer l'ion perchlorique par cette méthode qui ne doit être utilisée que pour le dosage du potassium.

Cette même remarque s'applique aux perchlorates de rubidium et de coesium dont les caractères de solubilité sont voisins de ceux du perchlorate de potassium.

2. — Méthodes par voie sèche

Nous savons que les perchlorates se transforment en chlorures sous l'influence de la chaleur à une température variable pour chacun d'eux: 432° pour le perchlorate de sodium; 400° pour celui de potassium, etc.

BERTHELOT a démontré par l'étude des chaleurs de formation que la réaction ne peut devenir explosive.

L'utilisation directe de ces méthodes consiste dans le titrage de l'ion perchlorique au sein des salpêtres naturels du Chili. Ces derniers renferment en effet de petites quantités de perchlorate qu'il est utile de déterminer avant leur emploi en agriculture: l'ion perchlorique à certaines concentrations présente en effet une légère nocivité pouvant gêner ou retarder la germination (Al. ZAHARIA (74).

HISTORIQUE

En 1898, FOERSTER (18) propose la fusion du salpêtre en présence du carbonate de sodium. BLATTNER et BRASSEUR (5-6) opèrent de même, mais en présence de chaux pure. LEMAITRE (38) conseille d'opérer cette fusion en présence du sulfite de sodium. DIETRICH et BOLLENBACH (14) préconisent le nitrite de sodium ou de potassium, et précisent le mode opératoire pour éviter toute explosion. L'action des métaux pulvérulents a été également étudiée, et SELCKMANN (50) présente une méthode de réduction par le plomb métallique. SCHARRER (48)

propose l'emploi du cuivre. HÖNIG (23) reprend les recherches dans cette voie et étudie l'action réductrice des poudres d'aluminium, de fer, de magnésium, de zinc et d'étain. Il signale que le magnésium et l'étain sont inutilisables à cause de la violence de la réaction; le zinc et l'aluminium donnent une masse grumeleuse et le chauffage modéré devient insuffisant. Par contre, la limaille de fer se prête très bien à l'action réductrice et il conseille son emploi: chauffage léger, 30 minutes, dans une capsule de nickel, du salpêtre additionné du tiers de son poids environ de limaille de fer. La masse est finalement reprise par l'eau, filtrée, et les chlorures titrés à l'argent. Il est naturellement nécessaire de faire, au préalable, un titrage de l'ion Cl ou de l'ion ClO^3 pouvant exister.

3. — Méthodes par ébullition en milieu aqueux

Nous avons réuni dans ce groupe toutes les méthodes où la substance et les perchlorates qu'elle est susceptible de contenir sont amenés à l'état d'une solution aqueuse. Celle-ci est traitée à l'ébullition par un réducteur convenablement choisi pour son activité sur l'ion ClO^4 d'une part et sa non décomposition par le milieu au sein duquel il doit agir, d'autre part.

HISTORIQUE

TOMMASI en 1897 (64) propose de doser les perchlorates alcalins par leur réduction en chlorures, à la température moyenne de l'ébullition, par une solution de bisulfite de sodium en présence de zinc. SJOLLEMA (56) signale qu'en maintenant l'ébullition assez longtemps, les perchlorates en milieu neutre sont également réduits par l'hydroxyde de fer. Il indique un rendement de 90 %. VENDITORI (68) indique leur réduction à l'ébullition en présence d'acide sulfurique et d'aluminium finement pulvérisé.

Mais dans les méthodes de ce groupe, les plus nombreuses ont été celles utilisant les sels titaneux.

ROTHMUND en 1909 (46) après avoir fait la critique de la méthode de réduction à l'hydroxyde de fer proposée par SJOLLEMA, découvre la propriété réductrice des sels titaneux vis-à-vis de l'ion perchlorique, et propose ainsi leur titrage. Il opère par ébullition en milieu aqueux en présence de sulfate titaneux. Il cite enfin sans préciser les conditions de leur emploi, l'action réductrice des sels de Va, Mo, W, Cr. KÖNIG (32) tout en appliquant la même technique de réduction, préconise de terminer par le dosage d'halogène suivant la méthode de CHARPENTIER-VOHLARD. TREADWELL (65) conseille d'opérer la réduction en milieu légèrement sulfurique par le sulfate titaneux en présence de poudre de cadmium afin de réduire la durée d'ébullition. Il termine après oxydation du titane trivalent par un dosage de Cl. Il signale les bons résultats obtenus quant à la précision de sa technique. WILLIAMS enfin (72) opérant en milieu fortement acide: acide sulfurique à 25 % en volumes, obtient la réduction presque instantanée à l'ébullition par TiCl_3 . Il termine en titrant l'excès par l'alun de fer avec le sulfocyanure d'ammonium comme indicateur. Il signale que les chlorates ne sont pas réduits.

EMPLOI DE DIVERS RÉDUCTEURS

Nous avons voulu étudier à nouveau sur l'ion perchlorique l'action des différents principaux réducteurs que nous avons essayés à l'ébullition, en milieu aqueux. Les résultats obtenus ont été nuls ou insignifiants pour la plupart d'entre eux; l'hydroxyde ferreux agit lentement; le bleu de molybdène semble pouvoir être utilisé.

La technique de réduction suivie consiste en une ébullition de 15 minutes, d'une solution aqueuse, étendue, de perchlorate d'ammonium ou d'acide perchlorique (de 3 à 5 % environ), rendue acide par addition d'acide sulfurique (10 % env.) ou alcaline par la lessive de soude (10 % env.) et finalement additionnée du réducteur envisagé. Nos différents essais peuvent être schématisés dans le tableau I, où la recherche de l'ion Cl dérivant de l'ion ClO_4 est indiqué, suivant les cas, par 0 ou par TRACES.

Nous avons étudié à part l'action de l'hydrate d'oxyde ferreux préparé à partir du sulfate ferreux ammoniacal, en faisant varier les doses de réactif et les temps d'ébullition. Nous avons pu obtenir une réduction sensible, mais lente.

Il faut, dans les conditions précisées ci-dessus, opérer en présence d'un grand excès d'hydrate : sulfate de fer ammoniacal, 5 gr.; lessive de soude, 10 cm³; et maintenir l'ébullition deux heures environ. La réduction de l'ion perchlorique est nette, mais non quantitative.

TABLEAU I

Produits utilisés	Milieu acide	Milieu alcalin
Hyposulfite de sodium	0	0
Hypophosphite de sodium	0	traces
Anhydride arsénieux	0	0
Sulfate fer ammoniacal	0	
Acétate uraneux	0	traces
Sulfate stanneux	0	traces
Anhydride sélénieux	0	0
Acétate chromeux	traces	traces
H. { Zinc	0	0
naissant { Aluminium	0	0
{ All. Dewarda	0	0
Nitrite de sodium	0	traces
Hypobromite de sodium		traces
Hypoiodite de sodium		0
Sulfite de sodium		0
Phosphate de sodium		traces
Permanganate de potassium ..		traces
Chromate de potassium		traces
Hydroxyde manganoux		traces
Hydrate d'argent		traces
Sodium		traces
Formol		traces
Glucose		0
Pyrogallol		0
Sulfate d'hydrazine		traces
Sulfate d'hydroxylamine		traces

EMPLOI DU MOLYBDÈNE

La recherche d'un réducteur actif vis-à-vis de l'ion perchlorique nous a amené à essayer l'acide phosphomolybdique et l'acide phosphotungstique. Or, ces deux produits nous ont donné des résultats encourageants et, comme la littérature des perchlorates n'en fait aucune mention, nous avons voulu les étudier plus spécialement et voir dans quelles conditions les propriétés réductrices que nous avons observées pouvaient être quantitatives, fournissant ainsi une nouvelle méthode de titrage.

Nous sommes tout d'abord parti de l'acide phosphomolybdique, en évitant naturellement d'opérer en présence de l'élément ammonium qui le précipite : les essais de réduction sont donc faits sur une solution diluée au 1/100 d'acide perchlorique pur. L'élément actif est constitué par les différents oxydes molybdiques intermédiaires entre MoO^3 et Mo^2O^3 qui se forment au cours de la réduction des sels molybdiques par le zinc en milieu acide.

Une prise d'essai de 10 cm^3 environ est délayée dans un Erlenmeyer dans cinq fois son volume d'eau distillée, additionnée de quelques gouttes d'acide sulfurique pur, puis de 10 cm^3 d'une solution à 20 % d'acide phosphomolybdique. Le tout est additionné de 0,5 g. de limaille de zinc. L'hydrogène naissant, fourni par l'attaque du zinc, réduit la liqueur molybdique en donnant du bleu de molybdène qui colore intensément la liqueur. Celle-ci est alors portée et maintenue un certain temps à l'ébullition. Après une décantation séparant l'excès de zinc, la liqueur est acidifiée, additionnée d'un excès de nitrate d'argent et titrée par le sulfocyanure d'ammonium en présence d'alun de fer.

Nous avons fait de nombreux essais dans ces conditions, en faisant varier l'acidité du milieu (c'est-à-dire la dose d'acide sulfurique), le temps d'ébullition, la poudre métallique, et avons observé que :

1° Le zinc n'agit pas par lui-même : les résultats fournis par d'autres éléments métalliques sont aussi bons (alliage de Dewarda, aluminium).

2° Si on emploie le zinc, les résultats sont d'autant meilleurs que le milieu est plus acide, mais sans dépasser toutefois la concentration de 30 % d'acide sulfurique en volumes. Au delà, le bleu de molybdène ne se forme plus, et la réduction n'a plus lieu.

3° Une durée d'ébullition de dix minutes est suffisante, une durée supérieure n'améliore pas les résultats.

Continuant la recherche de l'utilisation des poudres métalliques, nous avons essayé la poudre d'aluminium, et avons repris avec elle la série des essais faits avec le zinc afin de déterminer les conditions optima de formation du bleu de molybdène et, parallèlement, de réduction de l'ion perchlorique. Nous trouvons cette fois qu'il convient d'opérer en milieu moins acide : 5 % environ; par contre, la durée de l'ébullition doit être portée à trente minutes.

Nous avons de plus constaté, au cours d'essais fractionnés l'inutilité de la présence de l'ion PO_4 , et même la gêne qu'il apportait à la réduction, ce qui nous a conduit à employer le molybdate de sodium comme point de départ du bleu de molybdène. Les essais successifs ont dès lors été faits à l'ébullition avec une solution de molybdate de sodium, additionnée d'acide sulfurique et d'aluminium. Nous avons observé que le bleu de molybdène, une fois formé, ne réduit plus l'ion ClO_4 : c'est au moment même de sa formation que se fait la réduction.

Détail pratique : l'attaque de la poudre d'aluminium étant rapide et nécessitant le refroidissement de l'Erlenmeyer au début de l'opération, une simplification consiste à employer une lamelle de ce métal; de plus, il est alors facile d'enlever l'excès d'aluminium avant d'opérer le titrage.

L'observation des différentes teintes qui se forment au cours de la réduction optima nous ont fait rechercher les conditions de formation d'une teinte verdâtre passant au brun.

Ces conditions sont les suivantes :

Pour une quantité d'acide perchlorique à titrer inférieur à 10 cg., la solution doit être diluée jusqu'à 30 cm³, puis on ajoute successivement :

Molybdate de sodium 1 gr.
Acide sulfurique pur 66° 2 cm³
Aluminium une lamelle

On opère dans un Erlenmeyer, que l'on recouvre d'un entonnoir pour éviter l'action oxydante de l'air, et que l'on porte à une ébullition maintenue 30 minutes. On enlève alors l'excès d'aluminium et on traite la liqueur par un excès de nitrate d'argent 0,1 n. : 10 cm³. On ajoute 2 à 5 cm³ d'acide nitrique pour obtenir une décoloration de la liqueur, en chauffant un peu si besoin; puis, après refroidissement, on termine le titrage par le sulfocyanure d'ammonium 0,1 n. en présence d'alun de fer.

Dans ces conditions, nous avons pu obtenir quelques résultats quantitatifs (erreur inférieure à 3 % par défaut), mais la partie délicate du traitement réside dans l'obtention des diverses teintes de la liqueur, dont l'alternance indique, même avant le titrage, si la réduction a été satisfaisante. A titre d'indication, nous signalons que les résultats ont été quantitatifs chaque fois que les teintes successives de la liqueur ont été les suivantes : jaune pâle, jaune vert, vert d'eau, vert, vert foncé, brun, chocolat.

EMPLOI DU TUNGSTÈNE

Il nous a dès lors semblé intéressant de faire des essais comparatifs avec le tungstate de sodium. Toutefois, le bleu de Tungstène présente des propriétés un peu différentes de celles du bleu de molybdène : il est stable à l'ébullition, et ses propriétés réductrices sur l'ion ClO_4^- , tout en étant admises, sont inférieures à celles du bleu de molybdène naissant. Par contre, il réduit notablement l'ion perchlorique en présence de sulfate ferreux, alors que, dans les mêmes conditions, le bleu de molybdène n'agit pas.

* Nous signalons donc simplement l'action réductrice du bleu de tungstène, laissant au bleu de molybdène l'application au dosage des perchlorates.

EMPLOI DU TITANE

Nous proposant de reprendre l'étude de l'action réductrice des sels titaneux sur l'ion perchlorique, signalée par ROTHMUND, nous avons tout d'abord voulu, suivant les indications de TREADWELL, préparer une solution de sulfate de titane. Cet auteur indique (65) de délayer une certaine quantité d'acide titanique dans de l'acide sulfurique concentré, puis, après 24 heures de repos, de chauffer cette bouillie à 120° jusqu'à dissolution complète de l'acide titanique; puis, après refroidissement, de compléter à un volume déterminé avec de l'eau. Or, en voulant exécuter cette préparation, à partir de l'acide titanique pur, hydraté « *Poulenc* », nous avons observé que le chauffage dans l'acide sulfurique doit se faire avec précaution, et en agitant la masse, en arrêtant le chauffage dès que la dissolution est obtenue, sinon l'acide titanique reprécipite ultérieurement de façon totalement insoluble. Cette solution a donc été essayée suivant une technique d'ébullition en milieu réducteur (zinc en milieu acide), analogue à celle employée par ROTHMUND. Nous avons pu obtenir sur l'ion perchlorique une action réductrice très sensible, bien que non quantitative. Cependant, l'excès de zinc semble gêner le titrage final, et nous soupçonnons, au cours de son élimination par attaque à l'acide nitrique, un départ de chlore.

Nous avons donc pensé faire agir l'hydrogène naissant fourni par le zinc en milieu acide sur la solution de sulfate de titane; puis, après l'avoir séparé de l'excès de zinc, opérer en un second temps la réduction sur l'ion perchlorique.

A cet effet, la solution de sulfate de titane, préparée avec la précaution mentionnée ci-dessus, est additionnée d'un excès de grenaille de zinc, et maintenue à ébullition douce, à l'abri de l'air (Erlenmeyer couvert d'un entonnoir), pendant quelques minutes. La liqueur, limpide et presque incolore au début, prend une teinte violet foncé. Elle est alors séparée de l'excès de zinc par rapide filtration, et recueillie sous une légère couche d'huile de vaseline, pour la soustraire à l'action oxydante de l'air.

L'exécution d'un dosage se fera dès lors par ébullition de cette liqueur de titane réduit sur la liqueur perchlorique; puis, en fin d'opération, les chlorures formés seront dosés suivant la méthode de CHARPENTIER-VOHLARD.

a) *Détail de la préparation de la liqueur réductrice.*

Acide titanique pur, hydraté, Poulenc 10 gr.
Acide sulfurique pur 66° 100 cm³

Agiter en chauffant avec précaution jusqu'à dissolution, sans chauffer au delà. Après refroidissement, ajouter avec précaution :

Eau distillée 100 cm³
Grenaille de zinc 20 gr.

Puis faire bouillir doucement, pendant quinze minutes environ, en munissant la fiole-laboratoire d'un réfrigérant à reflux qui préservera du contact oxydant de l'air ambiant.

Diluer enfin avec :

Eau distillée 200 cm³

et jeter le tout bouillant sur un filtre garni d'un peu de grenaille de zinc, en recueillant le filtrat sous une couche d'huile de vaseline.

b) *Titration.* — La liqueur réductrice, préparée comme il vient d'être dit, et contenant du sulfate titaneux, nous a servi à exécuter de nombreux titrages d'ion perchlorique par réduction. Nous avons fait varier dans ces titrages les quantités des divers éléments en présence afin de connaître les conditions optima de la réduction.

La technique, nous ayant donné les meilleurs résultats, est satisfaisante, car les erreurs sont inférieures à 2 % par défaut.

Soit à doser une certaine quantité de perchlorate de sodium, estimée inférieure à un nombre a de cg. On ajoute successivement :

Solution de sulfate titaneux 5 a cm³, pour excès
Eau distillée q. s. p. 12 a cm³, puis
Acide sulfurique pur 66° 2 a cm³

Le tout est placé dans un Erlenmeyer de capacité suffisante, et muni d'un réfrigérant à reflux, dans le double but de maintenir égale la concentration acide du milieu en évitant l'évaporation, et d'éviter l'action oxydante de l'air.

On porte à l'ébullition, qui est maintenue 15 à 20 minutes. L'ion perchlorique est alors quantitativement transformé en ion chlore. Il suffit de terminer par un dosage suivant la méthode de CHARPENTIER-VOHLARD. A cet effet, on ajoute au contenu de l'Erlenmeyer :

Solution décimormale de nitrate d'argent $a+1\text{ cm}^3$

Acide nitrique pur $a+1\text{ cm}^3$

et on porte à ébullition jusqu'à obtention d'une liqueur incolore, tenant en suspension un dépôt floconneux, blanc, plus ou moins abondant, de chlorure d'argent, qui est séparé par filtration. Il suffit après refroidissement d'ajouter à la liqueur quelques gouttes d'une solution à 10 % d'alun de fer, comme indicateur, et de faire un titrage en retour à la burette avec une solution décimormale de sulfocyanure d'ammonium dont la quantité théorique sera de 1 cm^3 pour les doses fixées ci-dessus.

c) *Titration oxydimétrique.* — L'oxydation de la liqueur de titane au cours de la réduction de l'ion perchlorique est parallèle à sa décoloration. D'autre part, cette même oxydation peut être obtenue à froid par une solution titrée de permanganate de potassium, d'où l'idée de titrages oxydimétriques de la liqueur de titane avant et après réduction perchlorique, donnant par leur différence la quantité de titane utilisée par l'ion perchlorique, et par là même son dosage.

Malheureusement, la liqueur titaneuse est peu stable et s'oxyde d'elle-même très facilement, même à froid, même relativement protégée de l'action oxydante de l'air par une couche d'huile de vaseline.

Des titrages successifs au permanganate de potassium 0,1 n., d'une même liqueur titaneuse, conservée à la température ambiante sous une couche d'huile de vaseline, nous ont donné les résultats successifs suivants, pour une même prise d'essai de 5 cm^3 :

A la préparation, après refroidissem.	17,5 cm ³
Après 1 jour	16,9 cm ³
— 2 jours	16,5 cm ³
— 3 jours	16,1 cm ³
— 10 jours	14,0 cm ³
— 20 jours	11,7 cm ³
— 120 jours	0,3 cm ³

La préparation de cette liqueur titaneuse doit donc se faire au moment de son emploi. De plus, son instabilité est trop grande pour qu'elle puisse être utilisée à un titrage oxydimétrique sans le secours d'un appareillage spécial. Elle peut être toutefois utilisée en quantité convenable pour le titrage par réduction de l'ion perchlorique.

Ces conclusions sont faites après des essais de titrage à la fin desquels nous opérions à la fois un titrage oxydimétrique au permanganate de potassium décimormal, et, dans la liqueur finale, un titrage des chlorures suivant la méthode de CHARPENTIER-VOHLARD : la concordance n'était pas toujours observée sans autre cause apparente que celle due à l'instabilité du sulfate titaneux.

d) *Application biologique.* — Notre méthode de titrage par ébullition en présence d'une solution de sulfate titaneux, puis titrage du chlorure formé par la méthode de CHARPENTIER-VOHLARD, est sensiblement quantitative.

Nous avons voulu l'appliquer à l'urine, dans le but de recherches sur l'élimination rénale des perchlorates. Nous avons dû lui faire subir de nombreuses modifications et, malgré cela, si certains résultats ont été très satisfaisants, d'autres nous ont donné des erreurs trop élevées pour que cette application directe puisse être envisagée.

Tout d'abord, les chlorures contenus dans l'urine doivent être éliminés, mais l'ion NO^3 décomposant ultérieurement les sels titaneux, il convient d'employer à cet effet le carbonate ou le sulfate d'argent, après acidification de l'urine à l'acide sulfurique. De plus, les nombreux oxydants susceptibles de se trouver dans l'urine détruisent une grande partie des sels titaneux; la liqueur

réduite que nous avons indiqué auparavant ne peut être utilisée, car il en faudrait un trop grand volume; la réduction doit donc se faire au sein même de l'urine, préalablement déchlorurée, à laquelle on ajoute directement le sulfate de titane et quelques aiguilles de zinc. La fin du dosage doit aussi être modifiée à cause de l'impossibilité d'observer nettement le virage de l'alun de fer au sein d'une liqueur finale, toujours plus ou moins rougeâtre; à cet effet, les chlorures formés par la réduction des perchlorates sont précipités sous forme de chlorure d'argent, lequel est recueilli sur un filtre et lavé. On termine alors par un dosage d'argent après destruction nitro-sulfoperchlorique du filtre et de son contenu.

La complexité de composition des liquides biologiques amène, comme on le voit, de nombreux obstacles à l'emploi de cette méthode. Nous avons essayé de diminuer cette complexité par des défécations préalables de l'urine et avons successivement utilisé dans ce but les méthodes au plomb, à l'azotate mercurique (réactif de PATEIN et DUFAU), au ferrocyanure de cuivre (VLADESCO) (69), au ferrocyanure de zinc (PAGET et DUPONT) (44). Toutes ces méthodes obligent à des filtrations de précipités plus ou moins volumineux, et toutes nous ont donné, au sujet des titrages du perchlorate, de grosses erreurs par défaut.

Concluons donc en admettant la possibilité d'emploi du titane pour le dosage des perchlorates par réduction, seulement au sein de solutions aqueuses simples, exemptes de substances biologiques.

CRITIQUE

Toutes les méthodes que nous avons groupées dans cette catégorie consistent donc en une réduction de l'ion perchlorique au sein d'un liquide bouillant. Or, l'ion perchlorique est stable et ses réducteurs sont peu nombreux : ils doivent être très actifs et par là même sont très peu stables. Dès lors, ils sont facilement détruits par les oxydants, et leur emploi au sein de liquides complexes, tels que les liquides biologiques naturels : urine, sang, ou ceux provenant d'une extraction de substance

biologique, ne peut se faire sans modifications. Le perchlorate doit être isolé séparément en une solution peu complexe. Or les défécations donnent des solutions encore très impures et obligent à des filtrations de précipités plus ou moins volumineux, amenant toujours des erreurs par défaut. Ceci est d'autant plus sensible que, dans le cas de recherches biologiques, nous sommes amenés à pratiquer le dosage de petites quantités d'ion perchlorique, de l'ordre du centigramme, contenues dans un liquide renfermant des quantités élevées de chlorures, de phosphates, d'urée, d'acide urique, etc. (voir nos recherches sur l'élimination, ch. IV, et sur la répartition, ch. V). Dans ce cas particulier, les méthodes de ce groupe sont donc inutilisables, et nous avons dû en employer une du quatrième groupe, que nous avons mise au point, et que nous exposons ci-après.

4. — Méthodes par ébullition en milieu sulfurique concentré

Ces méthodes consistent en la destruction de l'ion perchlorique à la température de l'acide sulfurique bouillant, et en présence de produits divers. Le chlore formé se dégage et est recueilli par une solution de sulfite ou d'arsénite de sodium au sein de laquelle il est titré.

HISTORIQUE

En 1917, W. SEUFTEN (53) propose de doser l'ion perchlorique à l'état de chlore après destruction par l'acide sulfochromique. Cette technique est étudiée par WILLARD et THOMPSON (71), qui considèrent que les résultats ainsi obtenus sont faibles, et proposent de chauffer le perchlorate au sein de l'acide sulfurique, et en présence d'amidon; ils maintiennent ainsi une ébullition pendant vingt minutes. Le ballon où ils opèrent est surmonté d'un réfrigérant ascendant, puis l'évacuation se fait dans une solution d'arsénite de sodium. Une tubulure latérale permet d'ajouter successivement, dans le ballon, tout d'abord l'acide sulfurique; puis, après la fin de l'opération, une solution de permanganate de potassium pour chasser tout le chlore restant dans la fiole. Ils

terminent par un dosage pondéral de chlorure d'argent. BIRCKENBACH et GOUBEAU (4) étudient de façon parallèle l'action de divers oxydants agissant également en présence d'acide sulfurique concentré maintenu à 200° pendant 1 heure 30 minutes. Un courant d'azote balaye le chlore formé, qui est absorbé par une solution de sulfite ou d'arsénite alcalin maintenue à 0° , et y est dosé.

On peut employer comme oxydants le bichromate de potassium, le nitrate de potassium, à la rigueur les nitrates de plomb ou de manganèse, mais les auteurs préconisent le persulfate de potassium et admettent une précision de 0,2 %.

EMPLOI DE DIVERS RÉDUCTEURS

Les différentes méthodes proposées sont assez lentes et obligent à un appareillage trop compliqué pour effectuer des recherches en série, aussi avons-nous essayé s'il ne serait pas possible d'obtenir une réduction satisfaisante par ébullition du perchlorate en présence d'acide sulfurique concentré et d'un corps chimique susceptible d'agir soit directement soit indirectement par les produits de sa décomposition.

La technique suivie était la suivante : la substance renfermant le perchlorate à doser est placée dans un matras de Kjeldahl et additionné d'acide sulfurique pur à 66° et du corps chimique dont on se propose d'étudier l'action. Ce matras est ajusté à l'émeri sur un barboteur en W de KAHANE (24) (fig. 1), refroidi par immersion dans une cuve d'eau. Le contenu du matras est porté à ébullition, qui est maintenue 15 à 30 minutes suivant les essais. Le barboteur est garni de quelques cm^3 d'une

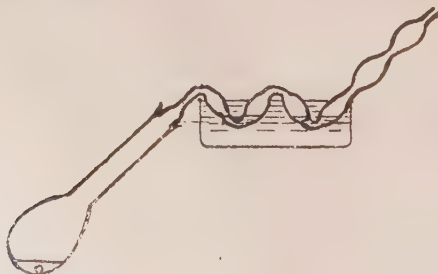


Fig. 1.

solution de sulfite de sodium, où est dosé le chlore en fin d'opération.

Une première série d'essais à partir d'une solution titrée de perchlorate de sodium, non préalablement évaporée, nous a donné des résultats nettement insuffisants. Dès lors, nous avons pris la précaution d'opérer d'abord une évaporation à siccité avant d'ajouter l'acide sulfurique concentré et le réducteur envisagé. Des essais d'évaporation à sec en présence d'acétate de sodium n'ont pas amélioré les résultats.

Il est évident que l'attaque des divers corps organiques par l'acide sulfurique a produit des composés intermédiaires allant jusqu'au carbone. Nous n'avons pas cherché à déterminer à quel stade se faisait la réduction.

Nous donnons ci-dessous (tableau II), à simple titre indicatif, la liste des produits utilisés, et les résultats obtenus. Certains de ces produits ont été utilisés à des doses variées. Nous n'avons pas cru utile d'exposer dans ce cas les divers dosages, mais avons indiqué seulement la moyenne des résultats obtenus.

TABLEAU II

Produits ajoutés à SO^4H^2 pur 66°	cg. Cl O ⁴ Na mis	cg. Cl O ⁴ Na trouvé
Sulfate d'hydrazine	15,00	1,50
— — + NO^3H	15,00	13,80
Hypophosphite de sodium	15,00	9,00
— — + NO^3H ...	15,00	11,20
Hyposulfite de sodium + NO^3H	15,00	11,20
Sulfate de fer ammoniacal + NO^3H ...	15,00	11,50
Fer limaille (sulfate fer naissant)	7,50	6,90
Sulfate d'hydroxylamine	7,50	6,30
Amidon	5,00	3,80
Glycérol	5,00	2,40
Cellulose	5,00	3,45
Glucose	5,00	4,80
— + Hypophosphite de sodium ..	2,00	2,05
— — —	5,00	4,95
— — —	10,00	8,30
Glycérol + —	10,00	5,80
Huile d'olives + —	10,00	9,50
Lactose	2,00	0
Pyrogallol	2,00	0

Nous avons également essayé l'action de l'anhydride acétique et celle de l'oleum pouvant agir comme déshydratants, en prenant toutes les précautions d'usage, et en utilisant l'appareil de Baubigny dans lequel nous faisons arriver goutte à goutte le réactif sur une prise d'essai d'une solution de perchlorate d'ammonium. Or, si l'anhydride acétique n'a donné lieu à aucun dégagement de chlore, l'oleum a donné une réduction très nette, bien que non quantitative. L'erreur est élevée : 15 à 20 %, et nous n'avons pas jugé utile de poursuivre dans ce sens une mise au point délicate et non exempte de dangers.

EMPLOI DU SOUFRE

La technique ci-dessus a été employée avec le soufre, et les résultats obtenus dès les deux premières opérations ayant été encourageants (3,67 au lieu de 5,00 et 1,85 au lieu de 2,00), nous avons jugé qu'ils pouvaient utilement donner lieu à des recherches de mise au point.

Nos premiers essais nous ont tout d'abord montré la nécessité de l'évaporation préalable à siccité de la solution ou du liquide d'extraction du perchlorate

La présence de carbonate de sodium pendant cette évaporation semble inutile; par contre, celle de petites quantités de substances organiques, carbonisées pendant l'attaque, semble faciliter la réduction. Ces substances organiques peuvent être constituées, soit par un peu de glucose ajouté à une solution de perchlorate, soit par celles qui se trouvent naturellement dans les liquides biologiques quand les dosages se font sur eux. Dans ce cas, la réduction se fera sur un liquide préalablement déchloruré. Cette élimination des chlorures peut d'ailleurs se faire par addition d'un léger excès de nitrate d'argent, en présence d'acide nitrique, la présence de l'ion NO_3 ne gênant pas la réduction (à l'inverse de ce que nous avons observé et indiqué au sujet des dosages par réduction en milieu aqueux à l'aide des sels de titane). L'ébullition de l'acide sulfurique concentré doit être maintenue trente minutes environ. Le chlore formé est recueilli par une solution de sulfite de sodium et

titré par le nitrate d'argent. Il est inutile d'opérer en atmosphère inerte, d'où une grande simplicité d'appareillage, constitué simplement, comme nous l'avons dit, par un matras de Kjeldahl ajusté à l'émeri sur un barboteur en W.

RÉSULTATS

Le tableau III expose les titrages effectués sur des solutions aqueuses de perchlorate de sodium. On trouve au cours du chapitre III un tableau (IV) analogue correspondant à des titrages effectués par cette même méthode, au sein de produits biologiques.

TABLEAU III

Titrages de $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ en solution aqueuse

mg. $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ ajouté	$\text{cm}^3 \text{NO}^3 \text{Ag}$ 0,1n	mg. $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ trouvé	Erreur %
12,25	0,98	12,00	—2
24,50	2,02	24,70	+1
61,25	4,80	58,80	—4
122,50	10,10	123,70	+1

Cette méthode de réduction par le soufre est rapide, précise et peut être facilement utilisée. Elle nous a servi à étudier chez l'homme l'élimination du perchlorate et à constituer un diagramme montrant la vitesse et la durée totale de l'élimination (chap. IV).

Elle nous a également servi à suivre la répartition de l'ion perchlorique dans les différents organes d'un animal, après en avoir assuré l'administration par voies buccale, intramusculaire ou intraveineuse (chap. V).

Elle nous a enfin servi à voir le sort de l'ion perchlorique au cours de la putréfaction (chap. VI).

5. — Conclusions

Au cours de ce chapitre, nous avons passé en revue les différentes méthodes applicables au dosage de l'ion perchlorique.

Parmi celles que nous avons plus spécialement étudiées, nous présentons une méthode utilisant le molybdate de sodium, dont la transformation en bleu de molybdène permet la réduction quantitative de l'ion ClO^4 en ion Cl , de titrage facile. L'erreur de dosage est inférieure à 3 %.

Les essais d'emploi du tungstate de sodium, dans les mêmes conditions, ne nous ont pas donné les mêmes résultats satisfaisants.

Reprenant l'étude des dosages par les sels titaneux, nous indiquons une technique de préparation facile d'une solution de sulfate titaneux, dont l'action réductrice sur l'ion ClO^4 est également précisée. Les dosages obtenus ont une erreur inférieure à 2 %.

Des essais de titrage oxydimétrique ne nous ont pas donné satisfaction.

Nous indiquons enfin et précisons l'emploi d'une nouvelle technique de dosage de l'ion ClO^4 par sa réduction en présence de soufre au sein de l'acide sulfurique concentré bouillant. L'erreur n'excède pas 4 % et cette technique a sur les précédentes l'avantage de pouvoir être utilisé pour les dosages des perchlorates au sein des substances biologiques.

Nous n'avons pas exposé les méthodes utilisant des moyens physiques, comme par exemple celle de réduction par voie électrolytique de SPITALSKY et JOFA (60).

Signalons pour terminer que les prises d'essai au cours de nos recherches ont été déterminées, soit par acidimétrie en ce qui concerne l'acide perchlorique, soit par prélèvements d'une solution de perchlorate de sodium ou de perchlorate d'ammonium, établie par la pesée à 0,1 mg. près de sels cristallisés et secs, en quantité voulue pour l'obtention d'un litre de solution décimale.

CHAPITRE III

MÉTHODES D'ANALYSE DES SUBSTANCES BIOLOGIQUES

Le problème de l'identification et du dosage d'une substance déterminée, au sein d'une substance biologique, peut être résolu de diverses façons. La substance biologique peut être détruite si, au cours de cette destruction, l'élément recherché reste inaltéré et facilement identifiable. Dans le cas contraire on pourra, soit l'extraire par épuisement de la substance avec un solvant approprié, soit amener la substance elle-même à l'état d'une solution permettant les traitements chimiques envisagés.

Passons rapidement en revue ces différentes méthodes.

1. — Méthode par électrodialyse

Cette méthode, présentée par R. FABRE (17), J. TABONE (62) et M^{lle} BAZILLE (2), permet d'isoler les électrolytes des substances biologiques dans des conditions de rapidité et de spécificité exceptionnelles. Elle n'est malheureusement pas applicable pour le dosage des perchlorates à cause de la libération anodique du chlore des chlorures, et la formation de composés organiques chlorés, qui se comportent comme les perchlorates eux-mêmes vis-à-vis de notre technique de dosage.

2. — Méthodes par destruction

Ces méthodes, d'un grand intérêt toxicologique, sont étudiées et appliquées systématiquement au labo-

ratoire de toxicologie de la Faculté de Pharmacie de Paris, sous la direction de M. le Professeur RENÉ FABRE.

Elles consistent en principe dans la destruction totale par la chaleur en présence d'acides sulfurique et nitrique de la matière organique. Appliquées tout d'abord par KJELDAHL au dosage de l'azote, elles ont reçu de nombreuses modifications dont la principale, mise au point par E. KAHANE et ses collaborateurs (26), consiste en l'addition d'acide perchlorique au mélange nitrosulfurique. On réduit ainsi considérablement le temps de destruction, et son usage est maintenant courant pour la minéralisation rapide de grandes quantités de substances. On peut ainsi doser par cette méthode de nombreux éléments tels que le soufre, le phosphore, la silice, le sodium, l'arsenic, etc. M^{me} H. GAUDUCHON, dans une thèse de doctorat en pharmacie (21) a défini les conditions d'emploi du mélange sulfo-perchlorique pour le dosage quantitatif de l'azote organique, et sa recherche qualitative. G. ANTOINE, dans des recherches étendues sur la silicose (1), a fait de nombreuses et rapides destructions par le mélange nitro-sulfo-perchlorique. D. BRARD (8) a utilisé la même méthode pour le dosage du chrome, etc.

3. — Méthodes par épuisement

La substance organique, après avoir été convenablement divisée, est traitée par un solvant de l'élément recherché. Plus le solvant agira dans des conditions spécifiques, plus la recherche ultérieure de cet élément sera facile. A cet effet, on ajoutera donc au solvant divers produits agissant dans ce sens. C'est ainsi que STASS, en 1850, indique une méthode d'extraction des alcaloïdes par l'alcool en présence d'acide tartrique. Cette méthode est modifiée par OTTO dans le but d'obtenir un résidu d'extraction plus pur. Sur le même principe, la méthode d'OGIER-KOHN-ABREST est couramment employée pour l'extraction quantitative des barbituriques dans les viscères. En 1927, FLORENCE propose une méthode à l'acide trichloracétique qui agit en précipitant les albumines et

en formant avec les alcaloïdes ou diverses bases telles que l'aniline, des sels solubles.

Nous avons utilisé, sur le conseil d'E. KAHANE, une technique d'épuisement des tissus à l'alcool-acétone (28) qui s'applique parfaitement, comme nous l'avons vérifié, à l'extraction des perchlorates. Nous allons l'exposer en détail.

Méthode suivie

La méthode à l'alcool-acétone que nous avons utilisée pour l'épuisement du perchlorate présente les avantages suivants: les albumines sont finement coagulées sans retenir de perchlorate et sans colmater les filtres (filtrations rapides); les filtrats sont limpides et n'ont pas tendance à donner des émulsions car ils ne renferment pas de lécithines; l'épuisement des perchlorates est quantitatif; enfin, comme le chlore normal des tissus existe entièrement sous forme de chlorures (KAHANE (28)), le liquide d'épuisement, débarrassé des chlorures par précipitation au nitrate d'argent, ne renfermera plus que l'ion chlore provenant des perchlorates, non précipitables par le nitrate d'argent.

DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE

Voici la description détaillée de la méthode que nous proposons pour doser la quantité de perchlorate contenue dans une substance biologique quelconque, méthode que nous avons exposée à la société de chimie biologique au cours de la séance du 2 mars 1937 (15).

Pour fixer les idées, prenons le cas d'un dosage à effectuer dans un organe animal.

1° *Broyage et division.* — L'organe prélevé et pesé est trituré au mortier avec environ le quart de son volume de sable, jusqu'à obtention d'une pâte à peu près homogène.

2° *Epuisement.* — Le contenu du mortier est additionné d'une petite quantité d'un mélange à parties égales d'acétone anhydre et d'alcool à 95° de façon à

former une bouillie sans grumeaux que l'on transvase dans un becher. Le mortier est rincé avec une petite quantité d'alcool-acétone, et le becher est maintenu à la glacière. Après un séjour de 24 heures, le résidu est essoré à la trompe à vide et soigneusement lavé par plusieurs additions successives de petites quantités d'alcool-acétone.

3° *Déchloruration.* — La liqueur d'épuisement est légèrement acidifiée à l'acide nitrique et traitée par un excès de nitrate d'argent qui précipite le ClAg . On laisse en contact à froid pendant 24 heures. Le chlorure d'argent se dépose bien et la filtration et les lavages ultérieurs se font dans de bonnes conditions. Le chlorure d'argent est alors séparé par filtration sur un petit filtre sans plis, la solution extractive étant reçue dans le matras devant servir aux opérations ultérieures. 2 ou 3 cm^3 d'alcool-acétone rincent en fin de filtration successivement l'Erlenmeyer et le filtre.

4° *Evaporation.* — Le matras est additionné d'une bille de verre et adapté à un réfrigérant descendant pour récupération du mélange alcool-acétone. L'ébullition douce est maintenue jusqu'à ce qu'un changement de son régime et parfois un peu de mousse indiquent la distillation de la plus grande partie de l'alcool et de l'acétone.

On sépare alors le réfrigérant et on termine l'évaporation sous une hotte en chauffant le matras maintenu avec une pince en bois et agité assez fortement. En opérant ainsi, la mousse se forme mais ne monte pas. Le mélange s'épaissit, la couleur se fonce, puis on observe un départ de vapeurs nitreuses dues à la décomposition du nitrate d'argent en excès; peu après, le mélange commence à charbonner. On arrête alors le chauffage. Le résidu s'enflamme parfois spontanément, mais des essais séparés nous ont montré qu'il n'y a pas de départ de chlore. On laisse refroidir.

5° *Réduction.* — Le contenu sec et plus ou moins charbonneux du Kjeldahl est additionné de 4 gr. de soufre lavé, exempt de chlore, et de 15 à 20 cm^3 d'acide sulfurique pur. Le Kjeldahl est adapté à un barboteur

en W garni de 2 ou 3 cm³ d'une solution à 20 % de sulfite de sodium et refroidi par immersion dans l'eau. On chauffe doucement jusqu'à ébullition que l'on maintient alors assez vive pendant 30 minutes environ. On observe la distillation d'un peu de soufre dans le barboteur, et le départ de gaz sulfureux (il convient à ce sujet d'opérer sous une hotte à fort tirage).

6° *Titration*. — Le contenu du barboteur est versé dans un Erlenmeyer, et le tube est rincé à trois reprises par remplissage de la première boule à l'eau distillée que l'on fait successivement passer dans les autres boules. Le liquide total obtenu est acidifié par 10 cm³ d'acide nitrique à froid, puis additionné d'un volume connu de nitrate d'argent décimormal. On porte à ébullition et on observe un départ de vapeurs nitreuses en même temps que la formation d'un précipité noir. La couleur de ce précipité est due à la présence de sulfure d'argent. Ce sel est attaqué pendant le chauffage et la couleur du précipité passe au blanc (chlorure d'argent). En fin d'opération, après 1 ou 2 minutes d'ébullition, on a un liquide incolore tenant en suspension un précipité blanc de chlorure d'argent plus ou moins abondant, et accessoirement quelques parcelles de soufre ne gênant en rien le titrage, qui est fait de préférence après filtration. Après refroidissement total et addition de quelques gouttes d'une solution d'alun de fer à 10 %, l'excès d'argent est titré par le sulfocyanure d'ammonium décimormal.

Le nombre de cm³ obtenu, déduit du nombre de cm³ de liqueur d'argent décimormale mis auparavant, donne le titre de chlore ou de perchlorate évalués en cm³ décimormaux.

Chaque cm³ correspond à 0,01225 g. ClO⁴Na.

RÉSULTATS

Nous résumons dans le tableau IV les résultats de titrages effectués sur des substances biologiques diverses, additionnées de quantités connues de ClO⁴Na. Par comparaison avec le tableau III analogue présenté au sujet du titrage proprement dit, on voit que l'erreur finale est

légèrement supérieure dans le tableau suivant; la différence entre deux résultats parallèles est imputable à l'épuisement: elle est relativement minime. La technique exposée ci-dessus nous a donc semblé pouvoir être applicable à des recherches biologiques que nous allons exposer.

TABLEAU IV

Titrages de Cl O' Na au sein de substances biologiques

	mg. Cl O' Na ajouté	cm ³ NO ³ Ag 0,1 n	mg. Cl O' Na trouvé	Erreur %
Urine 10 cm ³	12,25	0,98	12,00	— 2
	24,50	2,06	25,20	+ 3
	61,25	5,10	61,80	+ 2
	122,50	10,10	123,70	+ 1
Sang 5 cm ³	12,25	1,03	12,60	+ 3
	24,50	2,10	25,70	+ 5
	61,25	5,15	63,00	+ 3
	122,50	10,10	123,70	+ 1
Foie 20 gr. (*)	12,25	0,93	11,40	— 7
	24,50	1,82	22,30	— 9
	61,25	4,60	56,30	— 8
	122,50	9,10	111,50	— 9

(*) Pour les organes comme le foie, les erreurs un peu plus fortes sont vraisemblablement dues à l'extraction.

CHAPITRE IV

ÉLIMINATION DES PERCHLORATES

Dès 1868, RABUTEAU étudiant l'élimination du perchlorate de potassium et faisant les dosages par voie sèche, observait son passage sans altération dans l'urine, dans la proportion de 85 à 95 % de la quantité administrée (45).

EICHLER, reprenant cette question, établit des bilans d'élimination de l'ion perchlorique montrant d'une part sa rapide élimination et, de l'autre, la forte proportion retrouvée dans l'urine (16).

Nous avons voulu, en appliquant à nos dosages la méthode que nous avons mise au point, étudier la cadence de cette élimination en fonction du temps.

Pour ces recherches, il était tout indiqué d'envisager l'application à l'homme. SABATTINI, en 1887, a en effet établi que les perchlorates étaient moins toxiques que les chlorates (47). Le peu de toxicité de l'ion perchlorique rendait donc ce choix possible, et grâce à lui, il est facile d'obtenir dès lors des émissions d'urine à intervalles réguliers et fixés d'avance par les besoins de la recherche.

Détail de l'expérimentation

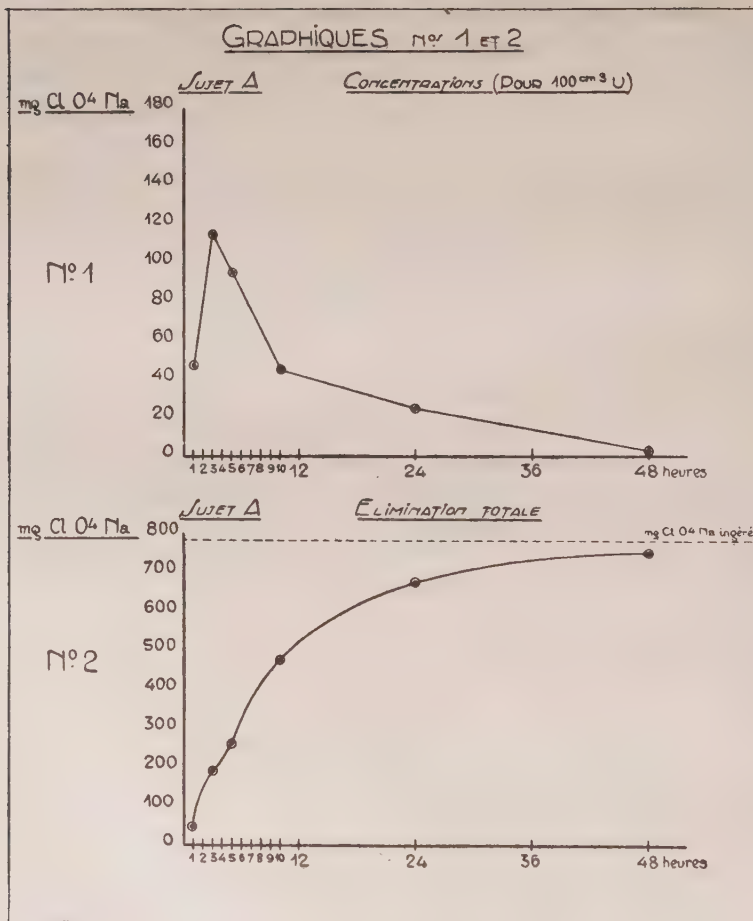
Expérience 1. — Le sujet A absorbe par voie buccale à 14 heures, 0,784 gr. de perchlorate de sodium dissous dans 100 gr. d'eau, après évacuation de la vessie. A 15 heures, soit une heure après, il émet 115 cm³ d'urine. A 17 heures, deuxième émission, de 125 cm³. A 19 heures, troisième émission, de 70 cm³. Nous recueillons alors ensemble toutes les émissions successives jusqu'à la

dixième heure, puis ensemble toutes celles du lendemain, puis enfin celles du surlendemain.

Nous dosons alors suivant notre technique, dans chacune des émissions, la quantité de perchlorate contenue, et par le calcul nous obtenons :

1. Les diverses concentrations de l'urine en ion ClO_4^- au cours de l'élimination.
2. Les quantités éliminées à chaque fois.
3. La quantité totale éliminée.

Nous pouvons ainsi dresser le tableau V et les graphiques n° 1 et n° 2 correspondants.



Élimination urinaire du Perchlorate de Sodium. — Exp. 1

TABLEAU V

Sujet A. — absorbé : 784 mg. Cl O⁴ Na

Durée de l'expérience	Urine cm ³ émis	cm ³ NO ³ Ag 0,1n p. 50 cm ³ Urine	mg. Cl O ⁴ Na		
			p. 100 cm ³ Urine	p. émission	TOTAL
1 heure	115	1,90	46,7	53	53
3	125	4,70	115,2	144	197
5	70	3,90	95,6	67	264
10	475	1,85	45,4	216	480
24	800	1,05	24,6	197	677
48	2100	0,15	3,6	77	754

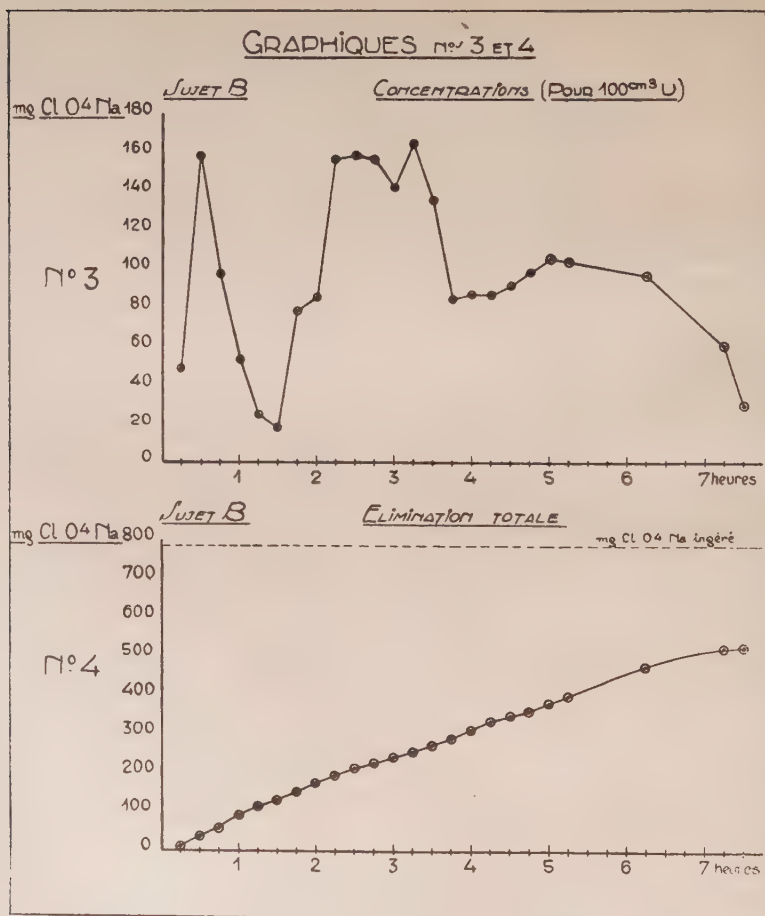
TABLEAU VI

Sujet B. — absorbé : 784 m. Cl O⁴ Na

Durée de l'expérience	Urine cm ³ émis.	cm ³ NO ³ Ag 0,1n p. 50 cm ³ Urine	mg. Cl O ⁴ Na		
			p. 100 cm ³ Urine	p. émission	TOTAL
15 mn.	20	0,40	49	10	10
30	18	1,30	159	27	37
45	20	0,80	98	21	58
1 h.	68	0,45	54	37	95
1 15	93	0,20	25	23	118
1 30	75	0,15	18	12	131
1 45	25	0,65	79	21	152
2	30	0,70	86	26	178
2 15	12	1,28	157	18	196
2 30	11	1,30	159	18	214
2 45	9	1,25	157	14	228
3	12	1,15	142	16	244
3 15	8	1,35	165	13	257
3 30	12	1,13	136	17	274
3 45	20	0,70	85	18	292
4	22	0,72	87	20	312
4 15	30	0,72	87	24	336
4 30	16	0,75	92	14	350
4 45	12	0,81	99	12	362
5	17	0,87	106	20	382
5 15	18	0,85	104	18	400
.....					
6 15	78	1,79	97	78	478
.....					
7 15	78	0,50	61	53	525
7 30	14	0,25	30	2	527

L'analyse du tableau et des graphiques nous font constater la rapidité de l'élimination. La courbe des concentrations présente un maximum dont nous ne pouvons préciser l'époque, mais qui se présente avant la cinquième heure, puisqu'à ce moment nous nous trouvons sur la partie descendante de la courbe.

Dans le but de préciser l'époque de ce maximum, nous avons voulu reprendre cette même étude, dans une deuxième série d'essais, à prélèvements plus rapprochés.



Élimination urinaire du Perchlorate de Sodium. — Exp. 2

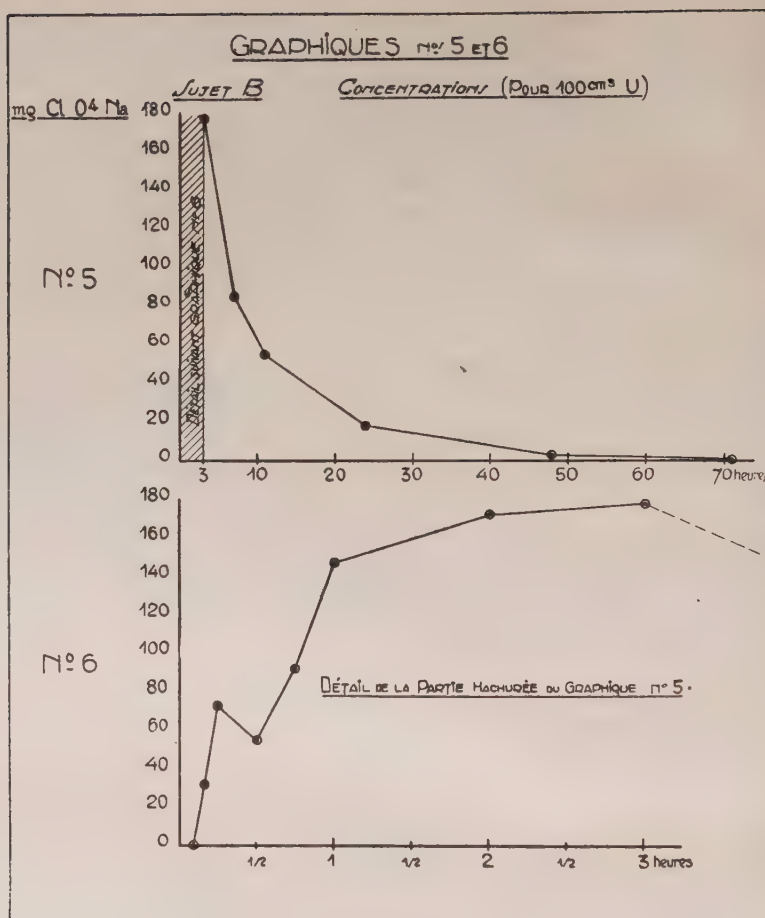
Expérience 2. — Le sujet B absorbe par voie buccale, à 9 heures, la même quantité, soit 784 mg. de perchlorate de sodium dissous dans 100 gr. d'eau. Les émissions sont cette fois recueillies toutes les 15 minutes pendant 8 heures, et dans chacune, l'élément perchlorique est dosé. Il est également dosé dans l'urine émise 22 heures puis 46 heures après le début de l'expérience, ces deux derniers résultats étant d'ailleurs très faibles.

Les résultats sont exposés au tableau VI et aux graphiques n° 3 et n° 4.

Expérience 3. — Indications exactes de l'expérience 2. Cette fois les émissions successives sont recueillies toutes les cinq minutes pendant la première heure. La première émission, cinq minutes après ingestion, ne contient pas de perchlorate. La deuxième, dix minutes après ingestion, en renferme, ce qui nous confirme la rapidité de la diffusion de l'ion ClO^4 . Par ailleurs, nous n'avons plus trouvé de perchlorate dans l'urine émise ultérieurement à la 48^e heure après le début de l'expérience.

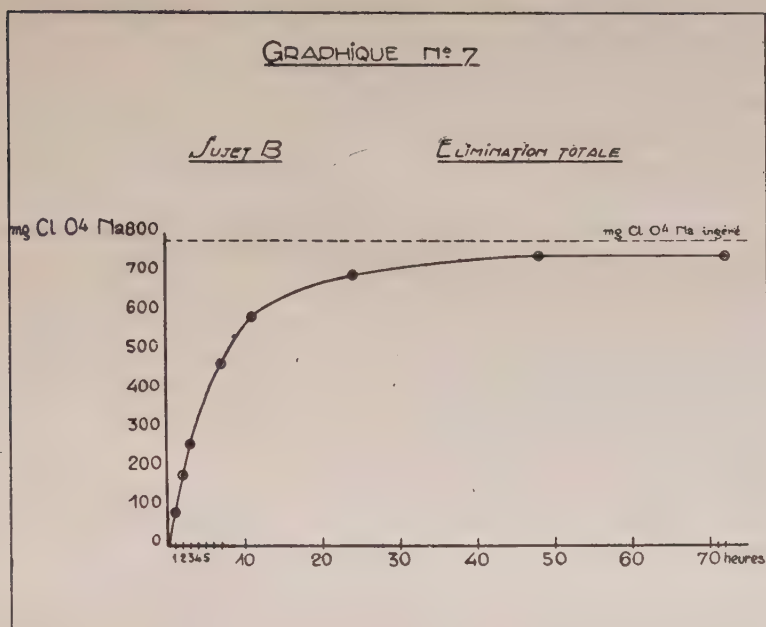
Le tableau VII et les graphiques n° 5, n° 6, n° 7, correspondent à cette expérience.

TABLEAU VII					
Sujet B. — absorbé : 784 m. $\text{Cl O}^4 \text{Na}$					
Durée de l'expér.	Urine cm ³ émis	cm ³ $\text{NO}_3 \text{Ag } 0,1\text{n}$ p. 50 cm ³ Urine	mg. $\text{ClO}^4 \text{Na}$		
			p. 100 cm ³ Urine	p. émission	Total
5 mn.	11	0	0	0	0
10	6	0,26	32	2	2
15	8	0,60	73	6	4
30	40	0,45	55	22	30
45	32	0,75	92	29	59
1 h.	20	1,20	147	29	88
2	55	1,40	172	95	183
3	40	1,45	178	71	264
7	240	0,70	85	206	470
11	220	0,45	55	122	592
24	570	0,15	18	104	696
48	1380	0,03	3	51	747
72	1650	0	0	0	747



Elimination urinaire du Perchlorate de Sodium. — Exp. 3

Remarque. — Les recherches de la présence de chlorates, faites à différentes époques au cours des essais, toutes les heures environ, ont été négatives. Elles ont été effectuées suivant la technique de DENIGES: l'urine préalablement déféquée au sous-acétate de plomb est additionnée d'aniline puis d'acide sulfurique: la coloration bleue déterminée par la présence de chlorate n'a jamais été obtenue.



Élimination urinaire du Perchlorate de Sodium. — Exp. 3

Interprétation des résultats obtenus

L'analyse des tableaux ainsi obtenus, et l'aspect des graphiques correspondants nous font faire les remarques suivantes :

1. L'ion ClO_4 diffuse très vite dans l'organisme, et chez un sujet normal apparaît dans l'urine dix minutes après son ingestion.

2. La voie urinaire semble la voie normale d'élimination puisque, aux erreurs d'expérience près, on retrouve dans l'urine la presque totalité du perchlorate ingéré.

3. Cette presque totalité est atteinte avant la 48^e heure.

4. La vitesse maxima de l'élimination (concentration maxima dans l'urine) a lieu vers la 3^e heure.

5. Cette 3^e heure marque environ l'élimination de 30 % de la quantité ingérée; à la 5^e heure, 50 % sont éliminés; 85 % dans les 24 heures; 95 % dans les 48 heures.

6. Les deux derniers graphiques des courbes de concentration présentent des irrégularités dues à un volume d'émission d'urine dont la variation peut être attribuée à toute autre cause extérieure étrangère à l'expérience. Il en résulte ainsi certaines émissions nettement plus abondantes que les deux voisines (précédente et suivante) et dès lors une concentration plus faible. Par contre les graphiques d'élimination montrent une grande régularité. Cette élimination est même dans les premières heures de l'expérience, directement proportionnelle au temps écoulé.

7. Il n'y a aucune réduction de perchlorate à l'état de chlorate au sein de l'organisme, comme le montrent nos expériences par voie chimique, et l'absence de méthémoglobine dans les expériences de KAHANE.

CHAPITRE V

RÉPARTITION DANS LES ORGANES

Etant établi que l'ion perchlorique introduit dans l'organisme n'y est pas réduit et est éliminé intact par la voie urinaire après une diffusion rapide, nous avons voulu étudier les conditions dans lesquelles s'opère son passage à travers l'organisme.

Le problème consiste donc à faire absorber une quantité déterminée de perchlorate à un animal, puis après l'avoir sacrifié avant que l'élimination urinaire soit complète, à chercher et à doser dans les différents organes, les quantités de perchlorate contenues. On en déduit les concentrations au même moment dans les différents organes, ce qui permet de pouvoir observer le cas échéant une sélectivité plus forte de l'ion ClO_4^- vis-à-vis de certains d'entre eux.

Détail de l'expérimentation

Pour cette étude, et afin de mettre en évidence l'influence du mode d'administration et l'influence du temps, trois séries de recherches ont été faites sur le **Lapin domestique** :

1° Administration intraveineuse de perchlorate de sodium, Lapin sacrifié 20 minutes après.

2° Administration intramusculaire, Lapin sacrifié 2 heures après.

3° Administration per os, Lapin sacrifié 2 heures après.

Expérience n° 1. — Le Lapin n° 1 reçoit lentement dans la veine marginale de l'oreille droite $1,3 \text{ cm}^3$ d'une solution de perchlorate de sodium à $0,4 \text{ g. par cm}^3$. Nouvelle injection, dans la veine marginale de l'oreille gau-

che, 15 minutes après, de 1 cm³ de la même solution. Au total, le Lapin reçoit ainsi 0,92 g. de perchlorate de sodium. On observe des phénomènes de paralysie des membres postérieurs dont on ne peut dire s'ils sont spécifiques de l'ion perchlorique, mais qui ne peuvent être attribués à la très grande hypertonie de la solution injectée, puisqu'on les observe également après absorption par voie buccale.

20 minutes après le début de la première injection, l'animal est sacrifié (après une ponction cardiaque nous permettant de recueillir 8 cm³ de sang) par injection dans le cœur de 5 cm³ d'alcool à 90°.

Expérience n° 2. — Lapin n° 2. Le perchlorate de sodium est injecté par voie intramusculaire. Le Lapin reçoit ainsi dans la cuisse droite le contenu d'une ampoule de 2 cm³ correspondant à 0,80 g. de perchlorate de sodium. Il est assommé par coup à la nuque 1 heure et 50 minutes après l'injection. Il est fait à ce Lapin deux prélèvements supplémentaires de tissus musculaire et osseux dans la région injectée, pour comparaison.

Expérience n° 3. — Lapin n° 3. On lui introduit directement dans l'estomac, à l'aide d'une sonde et d'un écarteur de mâchoires, 5 cm³ de solution renfermant 2 g. de perchlorate de sodium. On observe toujours les mêmes phénomènes de paralysie, auxquels s'ajoutent cette fois des symptômes de diarrhée pouvant être attribués au perchlorate dont la dose absorbée est nettement supérieure aux précédentes. L'animal est sacrifié après 2 heures et 10 minutes.

Les expériences sont alors conduites parallèlement:

Après la mort de l'animal, celui-ci est ouvert et les organes principaux sont prélevés, pesés et conservés à la glacière. On recueille ainsi le cœur, le foie, les poumons, les reins, les testicules ou les ovaires, les glandes surrénales, la rate et la vésicule biliaire.

D'autre part, après trépanation, on prélève une quantité connue de substance cérébrale. L'urine est obtenue par ponction vésicale. Le sang est prélevé par ponction cardiaque du Lapin n° 1, et par simple écoulement de l'artère carotide sectionnée chez les deux autres. On prélève enfin une portion de la muqueuse stoma-

cale, de la muqueuse intestinale, du tissu musculaire, du tissu osseux.

Au total, on obtient ainsi pour chaque animal quinze prélèvements dans chacun desquels on dose le perchlorate de sodium. A cet effet on suit la technique exposée par ailleurs: broyage des organes en présence de sable fin, épuisement à l'alcool-acétone, déchloration par le nitrate d'argent, réduction du perchlorate par le soufre en milieu sulfurique bouillant, titrage du chlore formé.

Résultats

Les résultats obtenus sont figurés dans les tableaux VIII, IX et X, indiquant à la fois les quantités trouvées et la concentration en ion perchlorique de chaque organe.

TABLEAU VIII

Lapin n° 1

a reçu 920 mg. ClO_4Na par voie veineuse, sacrifié 20 mn. après

Organes prélevés	Poids en g.	cm3 $\text{NO}_3\text{Ag. N.}$ p. déchlor. (¹)	cm3 NO_3Ag 0.1 n.	mg. ClO_4Na Total	mg. ClO_4Na p. 100 g. org.	Taux de ClO_4Na dans l'organe, par rapport au taux dans le sang
Cœur	7,55	2,20	0,05	0,6	7,9	0,5
Foie.....	95,00	15,00	0,20	2,4	2,5	0,2
Poumons .	13,75	5,00	0,18	2,2	17,1	1,1
Reins	15,30	5,00	0,30	3,6	23,5	1,5
Ovaires...	0,55	0,20	0,08	1,0	180,0	12,0
G. Surr...	0,30	0,50	0,04	0,5	150,0	10,0
Rate	1,00	0,50	0,10	1,2	120,0	8,0
V. Bili....	0,75	0,50	0,08	1,0	125,0	8,4
M. Céréb..	3,05	1,00	0,05	0,6	20,0	1,4
Urine	0,80	1,50	0,18	2,2	275,0	18,0
Sang	28,00	9,00	0,35	4,3	15,3	1,0
Estomac .	39,00	13,00	0,10	1,2	30,7	2,0
Intest.....	4,10	1,00	0,05	0,6	14,6	1,0
Muscle ...	21,55	5,00	0,15	1,8	8,4	0,5
Os	10,10	2,00	0,00	2,4	24,0	1,6

(*) Cette valeur ne présente aucun intérêt pour le dosage proprement dit, mais comme nous avons dû tâtonner avant d'employer une quantité en excès de nitrate d'argent, nous pensons rendre service en l'indiquant à ceux qui voudraient répéter des expériences de ce genre.

TABLEAU IX

Lapin n° 2

a reçu 800 mg. $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ par voie musculaire,
sacrifié 1 h. 50 mn. après.

Organes prélevés	Poids en g.	cm ³ NO ₃ Ag 0,1 n.	mg. Cl O ⁴ Na total	mg. Cl O ⁴ Na p.100 g. organe	Taux de Cl O ⁴ Na dans l'organe par rapport au taux dans le sang
Cœur	5,00	0,04	0,5	10,0	3,3
Foie	65,00	0,02	0,2	0,3	0,1
Poumons	8,00	0,02	0,2	2,5	0,8
Reins	10,30	0,04	0,5	5,0	1,6
Ovaires	0,15	0,14	1,7	1133,0	377,6
G. Surrénales	0,15	0,17	2,0	1333,0	444,3
Rate	0,60	0,07	0,8	133,0	44,3
V. Bili.	0,90	0,12	1,4	154,0	51,3
M. Cérébr.	7,00	0,07	0,8	11,4	3,8
Urine	9,00	6,00	73,5	816,6	272,2
Sang	20,00	0,05	0,6	3,0	1
Estomac	27,00	0,	0,	0,0	0
Intestin	3,00	0,19	2,3	76,6	25,5
Muscle gauche	100,00	0,02	0,2	0,2	0,1
— droit	100,00	0,02	0,2	0,2	0,1
Os gauche	18,00	0,09	1,1	6,0	2,0
— droit	20,00	0,10	1,2	6,0	2,0

TABLEAU X

Lapin n° 3

a reçu 2.000 mg. $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ per os, sacrifié 2 h. 10 mn. après

Organes prélevés	Poids en gr.	cm ³ NO ₃ Ag 0,1 n.	mg. Cl O ⁴ Na total	mg. Cl O ⁴ Na p.100 g. organe	Taux de Cl O ⁴ Na dans l'organe, par rapport au taux dans le sang
Cœur	6,65	0,25	3,0	45,1	1,9
Foie	90,00	1,50	18,4	20,3	0,8
Poumons	9,00	0,35	4,3	47,4	2,0
Reins	13,70	0,55	6,7	48,8	2,0
Testicules	5,55	0,10	1,2	21,6	0,9
G. Surrénales	0,50	0,50	6,1	1220,0	50,8
Rate	1,20	0,10	1,2	100,0	4,2
V. Bili.	0,70	0,05	0,6	85,0	3,5
M. Céréb.	7,00	0,10	1,2	17,1	0,7
Urine	30,00	20,20	248,6	828,6	34,5
Sang	23,00	0,45	5,5	23,9	1,
Estomac	50,00	1,15	14,1	28,2	1,2
Intestin	4,00	1,50	18,4	460,0	19,1
Muscle	28,00	0,45	5,5	20,0	0,9
Os	7,00	0,28	3,4	48,5	2,0

Conclusions

Avant de tirer toute conclusion de l'examen des tableaux, observons que les résultats obtenus portent sur trois animaux semblables mais non identiques qui ont reçu de trois façons différentes trois doses différentes de perchlorate de sodium. Toutefois ces trois doses différentes sont comparables : les deux doses injectées étant du même ordre de grandeur, et la dose donnée per os environ deux fois et demi supérieure. La grande variation porte surtout sur le temps écoulé entre l'administration du perchlorate de sodium et le sacrifice de l'animal expérimenté : intervalle de 20 minutes dans la première expérience et d'environ deux heures dans les deux suivantes.

Ceci posé, examinons les trois groupes de résultats obtenus et, négligeant tout d'abord les chiffres en eux-mêmes, envisageons l'ordre de grandeur des différentes concentrations de l'ion perchlorique dans les organes.

Nous distinguons tout de suite quatre catégories :

1° Organes dans lesquels la concentration moyenne est inférieure à 100 mg. dans 100 g. Ce sont : le cœur, le foie, les poumons, les reins, le cerveau, le sang, la muqueuse stomacale, le tissu musculaire, le tissu osseux. Nous trouvons là les organes de la vie végétative, à irrigation sanguine analogue, exception faite pour le cerveau qui d'ailleurs se comporte un peu différemment, comme nous allons le voir tout à l'heure.

2° Organes où cette même concentration est comprise entre 100 et 200 mg. Nous trouvons la rate, la vésicule biliaire, la muqueuse intestinale, organes d'élimination intestinale, fonctionnant peut-être comme agents de désintoxication de l'organisme.

3° Organes où la concentration est nettement supérieure. Nous trouvons les ovaires avec 445 mg. de moyenne et les glandes surrénales avec 900 mg. Ce sont là des glandes à sécrétion interne et le fait de leur énorme teneur en ion perchlorique par rapport au sang qui les irrigue est intéressant à noter, sans que nous ayons pu l'expliquer. Ces glandes ont un fonctionnement intense et élaborent des principes particulièrement actifs,

tant au point de vue chimique qu'au point de vue physiologique. Nos résultats sont à rapprocher à cet égard de ceux de BRARD pour le chrome (8), de Mlle BAZILLE pour le fluor (2), de Mlle LE BIHAN pour certains dérivés halogénés des hydrocarbures (3), de Mlle LEM pour le plomb (37), résultats qui ont été réunis et systématisés par M. le Professeur RENÉ FABRE.

4° Enfin nous classons à part l'urine, agent principal d'excrétion, dont l'étude à ce sujet a été faite plus longuement au chapitre précédent.

Reprenons maintenant l'étude de chaque catégorie, en envisageant cette fois les chiffres obtenus pour les concentrations dans chaque organe et pour chaque animal.

Nous observons que tous les organes de la première catégorie ont une teneur plus faible dans l'expérience 2 que dans l'expérience 1. Cela s'explique par l'élimination du perchlorate de sodium qui, comme nous l'avons établi précédemment, débute très tôt. N'oublions pas que l'expérience 1 est arrêtée 20 minutes après le début, et l'expérience 2, 1 heure et 50 minutes après ce même début ; nous sommes alors en période d'élimination maxima.

La comparaison avec l'expérience 3 nous donne cette fois des chiffres supérieurs dans l'ensemble et comme elle a lieu 20 minutes encore après l'expérience 2, toujours dans la période du maximum d'élimination, nous admettons que la dose de l'expérience 3 quoique absorbée per os produit sur les organes un effet physiologique plus important. Nous trouvons en effet plus de perchlorate de sodium dans tous ces organes, 2 h. 10 m. après l'ingestion, que nous n'en trouvons 20 m. après l'injection intraveineuse. Faisons une exception toutefois pour la substance cérébrale qui se comporte un peu différemment et dont la teneur en ion ClO^4 est plus faible dans le cas d'ingestion de perchlorate, ce qui peut s'admettre assez aisément.

Dans le second groupe, la rate et la vésicule biliaire présentent cette particularité d'avoir une concentration plus élevée dans l'expérience 2 que dans l'expérience 1. Il semble y avoir nettement au niveau de ces deux or-

ganes une rétention perchlorique ; les doses obtenues sont nettement supérieures à celles que l'on observe dans l'expérience 3. La muqueuse intestinale que nous avons placé également dans ce groupe semble subir également la même rétention perchlorique mais, par contre, sa teneur en perchlorate de sodium est très élevée dans le cas d'absorption per os, ce qui laisse penser que c'est à son niveau que se fait, pour une part, le passage dans le sang.

Les glandes ovariennes et les capsules surrénales, dont nous avons formé le troisième groupe à cause de leur haute concentration en ion ClO_4^- , sont susceptibles des remarques précédentes faites au sujet de la rate et de la vésicule biliaire auxquelles elles peuvent être comparées : augmentation du taux pendant l'intervalle 20 m.-1 h. 50 m. et concentration inférieure dans le cas d'ingestion per os.

Remarquons que la grande vitesse de diffusion de l'ion perchlorique est encore mise en évidence par l'expérience 2 (injection intramusculaire) où les dosages séparés sur le même animal de parties musculaire et osseuse des deux cuisses (injectée et non) nous donnent les mêmes résultats, ceci 1 h. 50 m. après l'injection. Cette rapidité de diffusion est encore mise en évidence dans l'expérience 1 par la présence d'ion perchlorique dans tous les organes 20 minutes après l'injection. Elle explique les variations, parfois assez grandes des concentrations dans un même organe à des temps différents.

En résumé, l'ion perchlorique, introduit dans l'organisme, diffuse vite vers une élimination urinaire rapide et totale.

Son taux, variable au cours de cette élimination, est du même ordre de grandeur dans les organes à irrigation analogue. Il est nettement plus élevé dans les glandes à sécrétion interne : rate, vésicule biliaire, ovaires, glandes surrénales, au niveau desquelles semble se produire une rétention.

CHAPITRE VI

SORT DE L'ION PERCHLORIQUE AU COURS DE LA PUTRÉFACTION

Il nous a semblé intéressant de rechercher quel était le sort de l'ion perchlorique au cours de la putréfaction, d'une part, au point de vue chimique, pour étudier son comportement au cours de nombreuses réactions qui s'élaborent à cette occasion, d'autre part, au point de vue toxicologique, pour voir si sa recherche éventuelle, en cas de non destruction, pouvait établir la présence d'un alcaloïde ou d'un toxique quelconque ingéré sous forme de perchlorate.

Technique suivie

C'est une simple application de celle que nous avons exposée précédemment et qui nous a déjà servi pour le dosage des perchlorates dans les substances biologiques.

Un prélèvement de sang ou de foie, suivant les expériences, est additionné d'une quantité connue de perchlorate de sodium, puis après un mélange soigneux, est abandonné à la température du laboratoire pendant une durée variable, au bout de laquelle, après putréfaction totale, le prélèvement est épuisé à l'alcool-acétone, et traité suivant notre méthode habituelle. Le perchlorate restant après la putréfaction est ainsi dosé et cette dose est comparée à celle qui avait été ajoutée au début.

Résultats

A l'inverse de ce que l'on pouvait prévoir, étant donnée la difficile réduction de l'ion perchlorique, ce der-

nier n'est pas resté inaltéré. Si les résultats des dosages n'ont jamais été nuls, par contre, ils se sont montrés nettement inférieurs aux prises d'essai, et ce dans des proportions telles que nous avons été amenés à admettre qu'il y avait réduction effective de l'ion perchlorique au cours de la putréfaction.

Nous avons réuni dans le tableau XI quelques résultats obtenus :

TABLEAU XI

Prélèvements (10 g.)	mg. Cl O ⁴ Na mis	mg. Cl O ⁴ Na trouvé	Jours	Perte %
Sang	40	35	10	12,5
Sang	40	33,6	15	16
Sang	25	15,3	75	40
Foie	40	27,5	10	31,2
Foie	40	23,8	15	40
Foie	25	10,5	75	60

Nous ne voulons pas tirer de conclusions sur des essais relativement peu nombreux; il semble toutefois que la réduction se fait assez lentement et pendant une longue durée. La rapidité est variable suivant l'organe en putréfaction, ce qui s'admet aisément.

Le problème de la recherche toxicologique de l'ion perchlorique ne se pose donc pas.

De toutes façons, l'ion perchlorique passe directement à l'état d'ion chlore, sans passer par l'état d'ion chlorique : toutes nos recherches de chlorate au cours de la putréfaction ont été négatives.

CHAPITRE VII

RECHERCHES SUR LA TOXICITÉ DES PERCHLORATES

HISTORIQUE.

Rappelons les plus importants travaux publiés à ce sujet. Tout d'abord, SABBATANI (47) établit que la toxicité des perchlorates est inférieure à celle des chlorates. KERRY et ROST présentent en 1897 (30) un travail étendu sur leurs études de l'activité biologique des perchlorates auxquels ils reconnaissent un pouvoir d'augmentation d'excitabilité du système nerveux végétatif, se traduisant par des contractions cloniques du muscle strié. Ils observent son inactivité sur la pression artérielle. L'action toxique de l'ion perchlorique a été comparée par certains auteurs, BOEHM (7) et CORPER (10) en particulier, à celle de l'ion sulfocyanique.

Signalons enfin que certains auteurs dont MESSINI (42), CARTOLARI (9) et SPAGNOL (59) ont attribué l'action de l'ion perchlorique à une précipitation du potassium dans l'organisme, d'où un déséquilibre sérique Calcium-Potassium. Ce fait n'est d'ailleurs pas retenu par EICHLER (16) qui admet que les symptômes de l'intoxication sont plutôt ceux provoqués par un excès que par une carence en potassium.

Quoi qu'il en soit, ces doses pour études de l'intoxication sont relativement très élevées, et si KERRY et ROST (30) signalent que des doses de 1,5 g. de perchlorate de sodium ont été mortelles pour des lapins, ces observations sont en contradiction avec les expériences d'EICHLER qui leur en faisait absorber jusqu'à 2 g. pour en suivre l'élimination. Ces expériences d'élimination chez les lapins ont été reprises récemment par KAHANE (27)

qui a injecté 1 g. de perchlorate de sodium par animal sans observer d'effets physiologiques autres que ceux, immédiats, dus vraisemblablement à l'injection de solutions très hypertoniques. Seuls des lapins recevant en plusieurs fois un total de 4 g. de perchlorate de sodium ont présenté des phénomènes d'intolérance grave, diarrhée particulièrement, provoquant la mort au bout de huit jours. La dose de 2 g. que nous avons fait absorber à un lapin au cours de nos recherches de répartition dans les organes (chap. V) est également comparable aux doses ci-dessus et a déterminé des phénomènes analogues.

La dose toxique minima pour le lapin est donc élevée, et CORPER (10) admet celle de 0,4 à 0,6 par kg., comparable à celle des sulfocyanures.

Les recherches de la toxicité de l'ion perchlorique sur les végétaux ont eu pour but l'étude de sa nocivité vis-à-vis des plantes, à cause de sa présence dans les salpêtres employés en agriculture. Cette question a été étudiée par SJOLLEMA (55), MAERCKER (40), FORSTER (19), FREYTAG (20) et VANDEVALDE (67). Ces auteurs ont constaté une certaine nocivité de l'ion perchlorique, se traduisant par un ralentissement de la germination et du développement. ZAHARIA (74) considère que pour qu'un salpêtre ne soit pas défavorable à l'agriculture, il faut que le pourcentage en ion perchlorique soit inférieur à 1,5 %.

Recherches personnelles

Rappelons tout d'abord, ainsi que nous l'avons indiqué au chapitre 4 sur l'élimination, que l'ion perchlorique est rapidement diffusé dans l'organisme, et éliminé en quantité presque totale. Par conséquent, nous ne devons pas observer dans l'étude de la toxicité de l'ion perchlorique d'effet par accumulation de faibles doses et dès lors, les recherches n'ont pas raison d'être poursuivies pendant de longues durées. En particulier, celles que nous avons faites sur les animaux et sur les plantes n'ont pas excédé 3 à 5 jours pour les premiers, 10 jours pour les dernières. Nous nous sommes bornés à obser-

ver dans ces délais le maintient ou l'abolition de la vie ; pour les graines expérimentées, nous avons noté l'empêchement total de la germination, ou le ralentissement de celle-ci. Nos recherches sur les moisissures et sur les bactéries ont donné lieu à des observations parallèles.

Il est évident que des recherches complètes, portant sur des représentants de tous les ordres animaux ou végétaux auraient pu apporter l'observation de quelques particularités intéressantes, mais il est vraisemblable que cet intérêt n'en aurait pas compensé la durée. Nous nous sommes donc borné dans une vue d'ensemble à étudier la toxicité de l'ion perchlorique sur quelques-uns seulement de ces représentants. Leur choix en a d'ailleurs été fait simplement par la facilité de nous les procurer. Les résultats obtenus se correspondent : nous les analyserons en fin de chapitre, passant au préalable à l'exposé des techniques suivies pour les expérimentations.

ESPÈCE HUMAINE

Notre étude s'est limitée à celle de l'élimination exposée au chapitre 4.

RONGEURS

L'étude de la toxicité chez le lapin domestique a été exposée au début de ce chapitre.

POISSONS

De nombreuses expériences de toxicité de l'ion perchlorique sur le Cyprin bronzé (*Carassis auratus*) ont été faites par KAHANE (27) dans le but de chercher à partir de quelle dose la présence permanente de perchlorate détermine une issue fatale. Il résume les résultats obtenus dans le tableau ci-après que nous nous permettons de reproduire car, sur ses conseils, nos recherches sur les autres animaux ont été faites de façon parallèle.

Toxicité de Cl O⁴ Na pour le Cyprin bronzé

Titre en Cl O ⁴ Na %.....	0,02	0,04	0,1	0,2	0,5	1	2	4
Nombre d'animaux	5	5	5	5	5	5	3	3
Survie après 10 h.....	5	5	5	5	5	5	0	0
— — 24 h.....	5	5	5	4	3	3		
— — 3 j.....	5	5	5					

Nos observations sur des Perches (*Perca fluviatilis*) nous ont permis de dresser de façon analogue le tableau XII suivant :

TABLEAU XII

Toxicité de Cl O⁴ Na pour la Perche

Titre en Cl O ⁴ Na %.....	0,01	0,2	0,5	1	2
Survie après 1 h.....	1	1	1	1	0
— — 8 h.....	1	1	1	0	
— — 18 h.....	1	0	0		
— — 24 h.....	1				
— — 2 j.....	1				

L'animal expérimenté est mis en observation dans un aquarium de capacité suffisante renfermant une solution de perchlorate de sodium à concentration voulue, dans l'eau commune. Cette solution est renouvelée après 24 heures pour assurer une aération convenable.

BATRACIENS

Nous avons fait des expériences sur la Grenouille (*Rana temporaria*) uniquement au cours de sa vie aquatique à l'état de têtard. A cet effet, un certain nombre de ceux-ci sont répartis dans des bocaux renfermant des solutions diversement concentrées en perchlorate de sodium. L'observation se fait avec comparaison d'un bocal témoin non perchloraté. La durée de l'expérimentation est trop courte pour qu'il puisse être question d'observer un retard ou une anomalie quelconque dans la vitesse de transformation des têtards en grenouilles : nous nous sommes bornés à noter l'action toxique du milieu en fonction du temps.

TABLEAU XIII

Toxicité de ClO⁴ Na pour le têtard

Titre en ClO ⁴ Na %	Témoin	0,1	0,2	0,5	1	2
Nombre d'animaux	5	5	5	5	5	5
Survie après 12 h.	5	5	5	5	4	0
— — 24 h.	5	5	4	3	0	
— — 36 h.	5	4	0	0		
— — 48 h.	5	2				

VERS

Les expériences ont été faites sur des Sangsues (*Hirudo medicinalis*) chez lesquelles nous avons comme ci-dessus étudié l'action toxique de l'ion perchlorique. Nous observerons dans ce cas que la fonction temps n'a qu'une valeur très relative, par suite de la durée variable du séjour des animaux expérimentés au sein de l'élément liquide, ceci en rapport avec l'état hygrométrique extérieur.

TABLEAU XIV

Toxicité de ClO⁴ Na pour la sangsue

Titre en ClO ⁴ Na %	0,1	0,2	0,5	1	2	4
Nombre d'animaux	5	5	5	5	3	3
Survie après 1 h.	5	5	5	5	3	0
— — 10 h.	5	5	5	5	2	
— — 24 h.	5	5	5	4	0	
— — 2 j.	5	5	5	3		
— — 5 j.	5	5	5	3		

Nos observations sur les animaux ont uniquement consisté en la constatation de la durée du séjour au sein de l'élément perchloraté avant la mort. Nous avons toujours observé, même dans les faibles dilutions, de violentes contractions musculaires des animaux dans les premiers moments de leur séjour, faisant suite à des périodes de plus en plus longues de prostration complète. Nous retrouvons donc chez les poissons, les batraciens et les vers l'action d'excitabilité du système nerveux végétatif signalé par KERY et ROST chez le Lapin.

La sensibilité de chaque espèce est variable, mais du même ordre de grandeur : poissons et batraciens sem-

blent pouvoir s'accommoder d'une vie au sein d'une solution de perchlorate de sodium n'excédant pas le taux de 0,1 % ; les sangsues semblent supporter une concentration pouvant aller jusqu'à 0,5 %, mais ceci peut-être à cause de leur vie semi-aquatique.

RÈGNE VÉGÉTAL

Comme pour les animaux, nous n'avons pas recherché une détermination très précise de la dose toxique, mais seulement l'ordre de grandeur. Une précision plus grande peut être obtenue simplement en multipliant les expériences avec des doses très rapprochées les unes des autres et en choisissant un critérium bien déterminé. C'est ainsi que KAHLENBERG et TRUE (29), par exemple, ont étudié l'influence d'un grand nombre d'acides sur la germination des graines de Lupin (*Lupinus albus*), en mesurant la croissance en longueur des racines des jeunes plantules.

Expérience 1. — Des graines de Pavot (*Papaver somniferum*, *Papavéracées*) ont été réparties dans des cristallisoirs sur une couche de coton humide, et maintenues à douce chaleur pendant 5 jours. Au bout de ce temps, les graines étant germées, et la plantule commençant son développement, les cristallisoirs ont été additionnés tous d'un même volume (50 cm³) de solution de perchlorate de sodium à diverses concentrations, dont l'absorption par le coton, sensiblement sec à ce moment, nous donnait les conditions de l'expérimentation.

Les observations, faites chaque jour, ont donné les résultats suivants :

Le contenu du cristallisoir témoin a continué régulièrement son développement. Dans le cristallisoir renfermant la solution à 0,5 %, le développement était nettement en retard après 48 heures ; les plantules étaient mortes au bout de 3 jours. Au sein de la solution à 1 %, le développement s'est arrêté dans les premières 24 heures, les plantules étaient mortes après 48 heures. Enfin dans les concentrations de 5 et de 10 %, les plantules étaient mortes au bout de 24 heures.

TABEAU XV

Toxicité de $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ pour la graine de Pavot

Titre en $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ %.	0	0,5	1	5	10
Germinat. apr. 24 h.	normale	normale	ralentie	arrêtée	arrêtée
— — 48 h.	—	—	ralentie	arrêtée	—
— — 3 j.	—	—	arrêtée	—	—

Expérience 2. — Nous ensemençons cette fois 10 graines de Lentille (*Ervum lens*, *Légumineuses*) directement dans chaque cristallisoir contenant une des diverses solutions de perchlorate de sodium et observons les résultats suivants :

TABEAU XVI

Toxicité de $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ pour la graine de Lentille

Titre en $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ %.....	0	0,1	0,2	0,5	1	5	10
Nombre de graines	10	10	10	10	10	10	10
Ont germé après 24 h.....	0	0	0	0	0	0	0
— — — 48 h.....	9	9	8	6	3	0	0
— — — 3 j.....	9	9	9	7	3	0	0
— — — 4 j.....	9	9	9	7	5	0	0

Expérience 3. — Nous expérimentons 20 graines de Lin (*Linum usitatissimum*, *Linacées*) par cristallisoir, en doublant l'expérience par un essai parallèle avec des solutions diversement concentrées en chlorure de sodium, ceci pour pouvoir estimer l'influence de l'isotonie du milieu sur le développement de nos graines. Les observations ont toutes été faites ensemble, 20 jours après ensemencement, et ont porté sur l'observation du développement ou non de radicules, sur le nombre et la longueur moyenne des tigelles.

TABEAU XVII

Toxicité de $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ pour la graine de Lin

Observations après 20 jours

Nombre de graines par cristallisoir : 20

Titre en $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ %.....	0	0,1	0,2	0,5	1	5	10
Observ. de radicules ...	+	+	+	+	+	0	0
Nombre de tigelles	15	15	8	0	0	—	—
Long. moy. tig. cm.....	8	5	2	—	—	—	—
(*) Titre en Cl Na %....	—	—	0,09	0,23	0,45	—	—
Observ. de radicules ...	—	—	+	+	+	—	—
Nombre de tigelles	—	—	14	9	0	—	—
Long. moy. tig. cm.....	—	—	8	4	—	—	—

(*) Les doses indiquées correspondent sensiblement aux doses isotoniques du $\text{Cl O}^4 \text{Na}$ de la même colonne.

Toutes les graines expérimentées ont donné lieu à la remarque suivante : chaque fois que la concentration en perchlorate du milieu était insuffisante pour en amener la destruction, elle en retardait sensiblement le développement, et le nombre de graines en survie se trouvait proportionnel au coefficient de développement de celles-ci par rapport aux témoins.

Nous ne proposons d'ailleurs pas ces tableaux pour représenter l'action seule de l'élément perchlorique car quand le taux de celui-ci est assez élevé, la tension superficielle intervient et modifie dans son sens l'expérimentation. Nous admettons que les résultats obtenus pour les concentrations supérieures à celles de l'isotonie (qui est de 1,65 % pour le ClO_4Na) sont dues à l'hypertonie du milieu pour une forte part, ce que nous avons voulu mettre en évidence dans la deuxième partie de notre expérimentation sur les graines de Lin.

Les plantes, pendant leur période germinative, semblent tolérer un séjour au sein d'un milieu dont la concentration n'excède par 0,1 % sans changement appréciable dans leur développement. Une dose supérieure ralentit ce développement. Si la dose excède l'isotonie, la germination ne se fait pas et si elle a été provoquée auparavant, la plantule meurt.

CHAMPIGNONS

Les champignons ont, vis-à-vis des influences extérieures, une grande résistance, plus élevée en général que celle des plantes supérieures. Nous avons voulu établir s'il en était de même dans le cas particulier du perchlorate de sodium, afin de pouvoir faire la comparaison avec son action, précédemment étudiée, sur les graines.

Nous nous sommes inspiré des travaux de KIESSEL (31) publiés dans les Annales de l'Institut Pasteur, sans toutefois rechercher la même précision dans la détermination des doses. Cet auteur, en effet, détermine pour chacune des substances étudiées la dose maxima empêchant la germination et la dose minima ne l'empêchant pas. Il fait de même pour le développement du mycélium et pour le développement des conidies. Le pre-

mier critérium est observé microscopiquement, les deux autres à l'œil nu, par observation du développement des cultures ou de petites quantités de conidiophores.

Les résultats sont indiqués dans des tableaux dont nous reproduisons à titre d'exemple, les chiffres relatifs au phosphate monosodique :

SELS	Germination		Dével. mycélium		Dével. conidies	
	—	+	—	+	—	+
Phosph. monosod...	58,83	56,43	54,03	51,63	51,63	50,43

Nos recherches personnelles ont porté sur une souche de *sterygmatozystis nigra* sur gélose de SABOURAUD provenant du laboratoire de mycologie de la Faculté de Pharmacie de Paris. Les ensemencements ont été faits sur du liquide de RAULIN additionné de quantités variables de perchlorate de sodium. Notons à ce sujet que la faible dose de l'élément potassium contenue dans le Raulin n'est pas précipitée sous forme de perchlorate de potassium qui est soluble à cette dilution.

Technique suivie. — Le liquide de Raulin est réparti à volumes égaux (150 cm³) dans des fioles d'Erlenmeyer, puis additionné de quantités variables de perchlorate de sodium pour réaliser des concentrations de 0 (témoins), 1/100, 1/75, 1/50, 1/25, 1/10. Les fioles sont bouchées au coton cardé et stérilisées à l'autoclave, 20 minutes à 115°.

Un prélèvement à l'anse de platine de *Sterygmatozystis* sur la souche est alors mis en suspension dans 10 cm³ de sérum physiologique stérile, puis on ensemence chaque Erlenmeyer avec quelques gouttes de cette suspension. On maintient à l'étuve à 30°.

Observations. — A) Témoins. Le parfait autoclavage préalable et les ensemencements ultérieurs sont contrôlés par l'observation des témoins qui ne présentent aucun développement mycélien jusqu'à la fin de nos expériences pour les premiers (Raulin non ensemencé, perchloraté ou non) ou bien donnent un abondant développement après 48 heures (Raulin ensemencé, non perchloraté).

B) Milieux perchloratés,ensemencés. Nous avons suivi le développement de *sterygmatozystis nigra* au sein des liquides de Raulin diversement perchloratés, et avons noté successivement pour chacun de ces milieux, la date d'apparition du mycélium et des conidies.

Le tableau suivant (XVIII) indique les résultats observés :

TABLEAU XVIII
Sterygmatozystis nigra

Observations après 1 jour		2 jours	4 jours	9 jours	Poids moyen du Mycelium après 12 jours
Témoi	Mycelium	Conidies	Conidies abondantes	Conidies abondantes	37 gr.
1/100	—	Mycelium	Quelques Conidies	—	36 gr.
1/75	—	—	—	Quelques Conidies	34 gr.
1/50	—	—	—	—	16 gr.
1/25	Pas de Mycelium	—	Pas de Conidies	—	10 gr.
1/10	—	—	—	Pas de Conidies	pratiq ^t nul

Conclusions. — En ce qui concerne *sterygmatozystis nigra*, les concentrations du milieu de Raulin en perchlorate de sodium, inférieures à 1/75 retardent le développement. Les concentrations comprises entre 1/75 et 1/25 diminuent considérablement le poids du mycelium. Les concentrations égales ou supérieures à 1/10 empêchent le développement.

BACTÉRIES

Pour terminer les recherches toxicologiques d'ordre général que nous avons poursuivies successivement chez les animaux, chez les végétaux supérieurs, chez les champignons, nous avons voulu estimer le comportement du perchlorate de sodium vis-à-vis des bactéries.

Nous référant à la thèse de Doctorat ès-sciences de S. LAMBIN (36), nous faisons observer qu'une étude bactériologique complète de l'influence sur les microorganismes de l'acide perchlorique ou de différents perchlo-

rates devrait comprendre l'établissement pour chacun des produits envisagés de leur « pouvoir antigénétique » et de leur « pouvoir antibiotique ». Cet auteur, en effet, fait remarquer que l'action d'un antiseptique sur un microorganisme nous fait observer deux processus : le premier est un arrêt de la multiplication des germes sans destruction de ceux-ci (pouvoir antigénétique), le second est la destruction définitive des germes (pouvoir antibiotique). A ces deux dénominations, proposées par S. LAMBIN, correspondent les doses antigénétiques et antibiotique, représentant la quantité minima de substance qui, ajoutée à un litre de bouillon de culture, empêche le développement ou détruit les germes contenus. Or ces doses sont délicates à déterminer et dans la thèse en question, l'auteur rappelle et présente la critique des différentes méthodes suivies jusqu'alors : méthodes des porte-germes, méthode des suspensions, méthode des ensemencements sur milieux nutritifs solides, puis propose à son tour une technique pour déterminer d'une façon très précise et sans objections possibles, les doses antigénétique et antibiotique d'une substance.

En ce qui concerne le perchlorate de sodium, il nous semble plus correct de parler du pouvoir empêchant car les pouvoirs antigénétique et antibiotique s'appliquent plutôt implicitement aux corps doués de pouvoirs antiseptiques, même légers, ce qui ne semble pas le cas du perchlorate de sodium. Nous nous sommes donc contentés d'estimer l'ordre de grandeur de son pouvoir empêchant vis-à-vis de *Bacterium Coli* et de *Staphylococcus pyogenes aureus*. Les doses empêchantes, ainsi délimitées, sont d'ailleurs très élevées, de plus, elles semblent n'amener qu'un retard plus ou moins long du développement. Nous avons observé par exemple un retard de huit jours sur les témoins dans des tubes de bouillon ensemencé avec le Staphylocoque et additionné de 10 % de perchlorate de sodium (dose relativement considérable).

Technique suivie. — Nous avons tout d'abord reparti nos milieux de culture dans des tubes contenant chacun 7,5 cm³ de bouillon de bœuf peptoné salé, auquel était ajouté 2,5 cm³ d'eau distillée contenant des quantités variées de perchlorate de sodium afin de réa-

liser les concentrations voulues. Tous ces tubes soigneusement remués pour assurer l'homogénéité du mélange, ont été bouchés au coton cardé et stérilisés par séjour de 20 minutes à l'autoclave.

Nous sommes partis de souches sur gélose inclinée, soit de *Bacterium Coli*, soit de *Staphylococcus aureus*, provenant du laboratoire de bactériologie de la Faculté de Pharmacie de Paris, sur lesquelles nous avons procédé à un premier prélèvement que nous avonsensemencé en bouillon peptoné salé. Après un séjour de 20 heures à l'étuve à 37°, le bouillon de culture nous a servi à ensemencer à l'anse de platine dans des conditions aussi strictement semblables que possible, les différents milieux préalablement préparés, à raison de 3 tubes de chaque dilution, conservant également 3 tubes témoins non ensemencés. Les différents tubes ont été maintenus à l'étuve à 37° et observés chaque jour, en notant leur observation par + ou 0 suivant qu'un trouble du bouillon ou que sa limpidité indiquait un développement ou non des germes.

Les premiers essais, dans le but de délimiter les doses agissantes du perchlorate de sodium, ont été faits sur des dilutions au 1/100, 1/1.000, 1/10.000. Les cultures ont toutes été positives et semblables aux témoins (bouillon non perchloraté) dès les premières observations. Une deuxième série d'essais a donc été faite avec, cette fois, des concentrations plus élevées : bouillon nutritif perchloraté à 25 g., 50 g., 75 g. et 100 g. par litre. Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux suivants, correspondants respectivement au *Bacterium Coli* (Tableau XIX) et au *Staphylococcus aureus* (Tableau XX).

Résultats. — Nous observons que les doses empêchantes du perchlorate de sodium sont variables avec les espèces envisagées ; elles sont de toutes façons très élevées et peuvent se situer entre 25 et 30 g. par litre pour *Bacterium Coli*, et entre 75 et 100 g. pour *Staphylococcus aureus*.

TABLEAU XIX
Bacterium coli

		I	II	III
Bouillon non perchloraté....	nonensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	+	+	+
		+	+	+
		+	+	+
B. perchl. à 0,1 g. par litre.. — 1 g. — .. — 10 g. — .. (résultats identiques)	nonensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	+	+	+
		+	+	+
		+	+	+
B. perchl. à 25 g. par litre...	nonensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	0	+	+
		0	+	+
		0	+	+
B. perchl. à 50 g. par litre...	nonensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
B. perchl. à 75 g. par litre...	nonensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
B. perchl. à 100 g. par litre...	nonensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0

I. — Observations après 9 heures.

II. — Observations après 24 heures.

III. — Observations après 6 jours.

TABLEAU XX
Staphylococcus Pyogenes Aureus

		I	II	III
Bouillon non perchloraté....	non ensemené	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	+	+	+
		+	+	+
		+	+	+
B. perchl. à 0,1 g. par litre.. — 1 g. — — 10 g. — (résultats identiques)	non ensemené	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	+	+	+
		+	+	+
		+	+	+
B. perchl. à 25 g. par litre...	non ensemené	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	0	+	+
		0	+	+
		0	+	+
B. perchl. à 50 g. par litre...	non ensemené	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	0	+	+
		0	+	+
		0	+	+
B. perchl. à 75 g. par litre...	non ensemené	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	0	0	+
		0	0	+
		0	0	+
B. perchl. à 100 g. par litre..	non ensemené	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	ensemencé	0	0	0
		0	0	0
		0	0	0

I. — Observations après 9 heures.
II. — Observations après 24 heures.
III. — Observations après 6 jours.

Conclusions

Autant que nous puissions nous permettre de schématiser des résultats obtenus sur quelques espèces seulement d'animaux ou de plantes, nous observons que l'ion perchlorique ne semble doué d'aucune toxicité. Seules des quantités relativement élevées peuvent entraver le développement normal de l'individu, soit qu'elles retardent ce développement, soit qu'elles le paralysent. Il a fallu employer des concentrations atteignant l'hypertonie pour obtenir la destruction de l'individu ; dès lors nous invoquons le déséquilibre osmotique et non plus l'ion perchlorique comme facteur de destruction vitale.

Les concentrations du milieu de vie usuel, en perchlorate de sodium, inférieures à 0,1 % semblent n'amener aucun trouble chez les poissons. Il en est de même jusqu'à 0,2 % pour les graines en germination. *Sterygmatoctystis nigra*, *Bacterium Coli* ne semblent pas influencés par 1 %, *Staphylococcus pyogenes aureus* par 5 %.

Les concentrations du milieu, correspondant aux limites de la vie possible sont assez difficiles à préciser et semblent de l'ordre de 0,5 % pour les têtards, 1 % pour les poissons et pour les graines en germination, 2 % pour *Bacterium Coli*, 10 % pour *Sterygmatoctystis nigra* et pour *Staphylococcus pyogenes aureus*.

L'action sur le développement est progressive et proportionnelle aux concentrations.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Après avoir rappelé quelques notions principales sur l'acide perchlorique et sur les perchlorates, nous avons tout d'abord passé en revue au cours de ce travail, les nombreux travaux présentés au sujet de leur dosage, travaux dont le grand nombre indique par là même la difficulté de la technique ou son manque de précision dans certains cas particuliers.

Recherchant l'utilisation possible de nouveaux réducteurs, nous avons essayé de nombreux corps chimiques et avons mis au point une technique de réduction par les oxydes de molybdène intermédiaires entre MoO_3 et Mo^{2+}O_3 qui se forment au cours de la réduction par l'hydrogène naissant, d'une solution de molybdate de sodium en milieu acide. Nous avons donné le modus operandi et les conditions optima permettant d'obtenir un résultat sensiblement quantitatif (erreur inférieure à 3 %). Nous n'avons pu obtenir de résultat équivalent par l'emploi du tungstène agissant dans des conditions analogues.

Poursuivant les recherches sur l'emploi des sels titaniques comme réducteurs de l'ion perchlorique, nous avons indiqué une technique facile de préparation d'une solution de sulfate titanique en vue de son emploi pour le titrage, et nous avons déterminé les conditions optima de son exécution.

Toutes ces méthodes ne peuvent être utilisées qu'en présence de solutions minérales; aussi avons-nous cherché une méthode où la destruction totale des substances organiques par l'acide sulfurique bouillant permette son emploi pour le dosage de l'ion perchlorique au sein d'un liquide complexe. Nous avons à nouveau essayé les diffé-

rents corps chimiques que nous pensions susceptibles d'agir, et avons mis au point une méthode employant le soufre en présence d'acide sulfurique bouillant, comme réducteur de l'ion perchlorique, qui, cette fois, peut être dosé en présence de toute substance minérale ou organique. Nous indiquons les quelques précautions simples à prendre et les résultats obtenus : dosages de quantités de perchlorate de sodium comprises entre 10 et 150 mg. avec une erreur inférieure à 4 %.

Pour la mettre en application, il est nécessaire dès lors d'extraire l'ion perchlorique des substances biologiques susceptibles de le contenir : nous passons en revue dans le chapitre suivant les différentes méthodes permettant la recherche d'un élément déterminé dans une substance biologique. En ce qui concerne l'ion perchlorique, nous avons utilisé une méthode d'extraction à l'alcool-acétone donnant toute satisfaction, et avec laquelle nous avons dosé des quantités de perchlorate de sodium comprises entre 10 et 150 mg., avec une erreur inférieure à 4 % en opérant sur l'urine, à 5 % sur le sang, à 9 % sur le foie.

L'association de cette méthode d'épuisement et de notre technique de dosage nous permettant dès lors de titrer la quantité d'ion perchlorique contenue dans une substance biologique quelconque, nous en faisons l'application dans une étude sur l'élimination des perchlorates par la voie urinaire chez l'homme. Nous observons la rapide et presque totale élimination par cette voie (50 % après 5 heures, 95 % après 48 heures), et représentons celle-ci par une courbe dont les différentes coordonnées sont établies toutes les cinq minutes pendant la phase la plus active.

Nous faisons une seconde application de nos techniques en étudiant la répartition dans les différents organes de l'ion perchlorique introduit dans l'organisme du lapin par différentes voies. Nous observons à nouveau sa rapide diffusion et nous constatons, au cours de son élimination, son taux du même ordre de grandeur dans les organes à irrigation analogue, et un taux nettement plus élevé dans les glandes à sécrétion interne.

Enfin, notre méthode de dosage est appliquée à la recherche du sort de l'ion perchlorique au cours de la putréfaction. Elle permet d'établir qu'il y a, à ce moment, une réduction effective, quoique lente, sans passer à l'état d'ion chlorique. C'est ainsi que, dans le foie, nous avons constaté une perte de 60 % après 75 jours sur les 25 mg. ajoutés au début de l'expérience.

Notre dernier chapitre représente nos recherches sur la toxicité des perchlorates. Elles nous montrent le peu de toxicité de cet élément vis-à-vis d'animaux, de plantes ou d'êtres inférieurs que nous avons fait vivre au sein de liquides renfermant des quantités assez élevées de perchlorate de sodium.

Comme on pouvait s'y attendre, la sensibilité vis-à-vis du milieu perchloraté croît avec la complexité de l'organisme de l'être vivant considéré.

Vu : Le Doyen :
Paul GUERIN.

Vu : Le Président de la Thèse :
René FABRE.

Vu et permis d'imprimer :
Pour le Recteur de l'Académie de Paris,
l'inspecteur de l'Académie :
G. RIMEY.

BIBLIOGRAPHIE

1. — G. ANTOINE, *J. Pharm. Chim.*, 1935, t. 22, 412.
2. — S. BAZILLE. Thèse Doct. Univ. (Pharm.), Paris, 1935.
3. — A. LE BIHAN. *J. Pharm. Chim.*, 1937, t. 25, 20-23.
4. — L. BIRCKENBACH et S. GOUBEAU. *Z. anorg. Ch.* 1931, t. 203, 9-17.
5. — N. BLATTNER et J. BRASSEUR. *Bull. Soc. Chim.*, 1898, t. 19, 539.
6. — N. BLATTNER et J. BRASSEUR. *Ch. Ztg.*, 1900, t. 24, 793.
7. — G. BOEHM. *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1929, t. 146, 327-346, et *Bioch. Ztschr.*, 1929, t. 209, 489-491.
8. — D. BRARD. Thèse Doct. Univ. (Phar.), Paris, 1934.
9. — C. CARTOLARI. *Arch. Intern. Pharm. Therap.*, 1930, t. 39, 101-117.
10. — CORPER. *Manual of Pharmacology*, 4 éd., p. 934. Londres, 1932.
11. — W.A. DAVIS. *Ag. Science*, 1912, t. 5, 52.
12. — G. DENIGES. *An. Chim. anal.*, 1917, t. 22, 103-105.
13. — G. DENIGES. *An. Chim. anal.*, 1917, t. 22, 127-128.
14. — M. DITTRICH et H. BOLLENBACH. *Ber. Dtsch. chem. Ges.*, 1905, t. 38, 751.
15. — J. DURAND. *Bul. Soc. C. Biol.*, 1937, t. 19, 739-746.
16. — O. EICHLER. *Arch. exp. Path. Phar.*, 1929, t. 144, 251-260.
17. — R. FABRE. *Soc. Pharm. Paris*, 5 juillet 1935, in *J. Pharm. Chim.*, 1935, t. 22, 85.
18. — O. FOERSTER. *Chem. Ztg.*, 1898, t. 22, 4-5.
19. — FORSTER. *Chem. Ztg.*, 1898, t. 1, 1308.
20. — F. FREYTAG. *Z. Offentl.*, 1898, t. 4, 321-23.
21. — H. GAUDUCHON. Thèse Doct. Univ. (Pharm.), Paris, 1936.

22. — F. HAMEL. Chem. News., 1892, t. 26, 27.
23. — M. HONIG. Chem. Ztg., 1903, t. 27, 32-33.
24. — E. KAHANE et M^{me} M. KAHANE. C. R. Ac. Sc., 1934, t. 198, 372.
25. — E. KAHANE. Bull. Soc. Ch. 1933, t. 53, 547
26. — E. KAHANE. Thèse Doct. ès sc. Paris, 1934.
27. — E. KAHANE. Bull. Soc. Ch. biol., 1936, t. 2, 352-7.
28. — E. KAHANE. Bull. Soc. Ch. biol., 1937, t. 19, 720-30.
29. — KAHLENBERG et TRUC. Bot. Gaz., 1896, t. 22, 81.
30. — R.A. KERRY et E. ROST. Arch. exp. Path. Pharm., 1897, t. 39, 144-72.
31. — A. KIESEL. Ann. Inst. Past., 1913, p. 391.
32. — F. KONIG. Z. Anorg. Chem., t. 120, 48.
33. — KREIDER. Chem. News., 1895. t. 72, 242.
34. — KREIDER et BRECK. Z. An. Ch., 1897, t. 13, 161.
35. — D. KRUGER et E. TSCHIRCH. Z. anal. Ch. 1931, t. 85, 171-6.
36. — S. LAMBIN. Thèse Doct. ès sr. Paris, 1933.
37. — F. LEM. Thèse Doct. Univ. (Pharm.), Paris, 1936.
38. — LEMAITRE. Mon. scient. 1904, t. 1, 1427.
39. — O. LOEBLICH. Z. anal. Chem. 1926, t. 68, 34, et Ann. ch. anal. 1926, t. 8, 34.
40. — MAERCKER. Zentr. Blatt. 1898, t. 2, 935.
41. — C. S. MARVEL et V. du VIGNEAUD. J. amer. Ch. Soc. 1924, t. 46, 2661-3.
42. — M. MESSINI. Arch. internat. Pharmac. 1929, t. 36, 123-39.
43. — A. MOUNIER. Arch. sc. phys. et nat. Genève, 1916, t. 42, 210-16, et Ann. chim. anal. 1917, t. 22, 1-6.
44. — M. PAGET et Y. DUPONT. C. R. Soc. Biol. 1934, t. 117, 22 et 881.
45. — RABUTEAU. Gaz. hebd. 1868, n° 45.
46. — ROTHMUND. Z. anorg. Ch. 1909, t. 62, 108.
47. — L. SABBATANI. Arch. per la Sienza mediche, 1887, t. 51, 144-72.
48. — K. SCHARRER. Chem. Ztg. 1926, t. 50, 270.
49. — Th. SCHLOESING. C. R. Ac. Sc. 1871, t. 73, 1269-73.
50. — R. SELCKMANN. Z. angew. Ch. 1898, t. 101, 2.
51. — SERULLAS. Ann. Chim. Phys. 1831, t. 46, 294 et 297-308.

- 52. — SERULLAS. *Ann. Chim. Phys.* 1831, t. 46, 323-328.
 - 53. — W. SEUFTEN. *Ztschr. f. d. ges. Schiesz u. Sprengstoffwesen*, 1917, t. 12, 17.
 - 54. — SHIVER. *Chem. News.* 1899, t. 79, 269.
 - 55. — B. SJOLLEMA. *Chem. Ztg.* 1896, t. 20, 1002-4.
 - 56. — B. SJOLLEMA. *Z. and Ch.* 1904, t. 42, 127.
 - 57. — G. F. SMITH et J. F. ROSS. *Am. Chem. Soc.* 1925, t. 47, 774-81.
 - 58. — G. F. SMITH et J. F. ROSS. *Am. Chem. Soc.* 1925, t. 47, 1020-26.
 - 59. — G. SPAGNOL. *Arch. di Fisiol.* 1934, t. 33, 101-117.
 - 60. — E. SPITALSKY et S. JOFA. *Ztschr. anorg. allg. Chem.* 1928, t. 169, 309-18.
 - 61. — F. STADION. *Ann. Chim. Phys.* 1818, t. 8, 406-414.
 - 62. — J. TABONE. *Thèse Pharm. Sup. Paris*, 1936.
 - 63. — R. G. THIN et A. C. CUMMING. *Chem. Soc.* 1915, t. 107, 361-6.
 - 64. — TOMMASI. *Ber. Dtsch. Chem. G.* 1879, t. 12, 1701.
 - 65. — W. D. TREADWELL. *Helv. Ch. Act.* 1922, t. 5, 807-810.
 - 66. — M. Van BREUKELEVEEN. *Rec. trav. chim. Pays-Bas.* 1898, t. 17, 94-95.
 - 67. — A. J. J. VANDEWALDE. *Chemisch Weekblad.* 1904, t. 1, 410-13.
 - 68. — D. VENDITORI. *Gaz. chim. Ital.* 1907, t. 37, 383-86.
 - 69. — R. VLADESCO. *C. R. Soc. Biol.* 1935, t. 119, 768.
 - 70. — H. H. WILLARD. *J. Amer. Chem. Soc.* 1912, t. 34, 1480-5.
 - 71. — A. WILLARD et S. THOMPSON. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 1930, t. 2, 272.
 - 72. — S. G. WILLIAMS. *Chem. News.* 1919, t. 119, 8.
 - 73. — S. H. YOE. *Ann. Ch. anal.* 1926, t. 8, 1-3.
 - 74. — A. ZAHARIA. *Bull. Soc. Sciences Bucarest*, 1898, t. 7, 361-405.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	7
CHAPITRE I. — <i>Généralités sur l'acide perchlo- rique.</i>	10
Propriétés physiques	11
Propriétés chimiques	12
Perchlorates	12
CHAPITRE II. — <i>Dosage de l'ion perchlorique</i>	14
1° Méthodes par précipitation	14
Historique	15
Essais personnels	16
2° Méthodes par voie sèche	17
Historique	17
3° Méthodes par ébullition en milieu aqueux.	18
Historique	18
Emploi de divers réducteurs	19
Emploi du Molybdène	21
Emploi du Tungstène	23
Emploi du Titane	24
a) Préparation de la liqueur réductrice	25
b) Titrage	25
c) Titrage oxydimétrique	26
d) Application biologique	27
Critique	28
4° Méthodes par ébullition en milieu acide sulfurique conc.	29
Historique	29
Emploi de divers réducteurs	30
Emploi du Soufre	32
Résultats	33
5° Conclusions	33

CHAPITRE III. — <i>Méthodes d'analyse des substances biologiques.</i>	35
1° Méthode par électrodialyse	35
2° Méthodes par destruction	35
3° Méthodes par épuisement	36
4° Méthode suivie. Description.	37
Résultats	40
CHAPITRE IV. — <i>Elimination des perchlorates</i>	41
Détail de l'expérimentation.	41
Interprétation des résultats	47
CHAPITRE V. — <i>Répartition dans les organes</i>	49
Détail de l'expérimentation	49
Résultats.	51
Conclusions.	53
CHAPITRE VI. — <i>Sort de l'ion perchlorique au cours de la putréfaction</i>	56
Technique suivie	56
Résultats.	56
CHAPITRE VII. — <i>Recherches sur la toxicité des perchlorates.</i>	58
Historique.	58
Recherches personnelles	59
sur les animaux	60
sur les plantes	63
sur les champignons	65
sur les bactéries	67
Conclusions. . .	72
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.	73
BIBLIOGRAPHIE	76

